

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA EKOLOGIE



**Vliv možnosti šíření žábřonožek (Crustacea: Anostraca) na
genetickou strukturu populací**

*Dispersal ability of anostracans and its impact on genetic structure of
populations*

Hana Rychtrmocová

Školitelka: RNDr. Veronika Sacherová, PhD.

Praha, 2008

ABSTRACT

The coldstenothermal species *Eubbranchipus grubii* (Dybowski, 1860) is restricted only to vernal temporary pools in floodplain and does not occur in any other type of water habitat. Organisms living in these habitats have to be well adapted to low temperatures, desiccation, low nutrient levels, and have the ability to migrate among habitats and colonize newly established ones. *E. grubii* survives periods of desiccation in the form of cyst. These cysts serve as a mean of dispersion. In the Czech Republic *E. grubii* occurs in watersheds of rivers Labe, Morava, Odra and Dyje. We collected 95 populations in these different regions. The extent of genetic divergence among populations was assessed by analyzing sequence variation in mitochondrial gene (COI). Comparing levels of mtDNA sequence divergence divided studied populations into three main groups according to watersheds. Genetic relationships among populations inhabiting different watersheds showed 1,7 – 5,7 % sequence divergence. Sequence divergence within populations is very small. It seems that *E. grubii* colonized the area of today's Czech Republic from different refugia.

OBSAH

1. ÚVOD	3
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	5
2.1. Obecná charakteristika a morfologie modelového organismu	5
2.2. Studovaný organismus – <i>Eubbranchipus grubii</i>	7
2.3. Životní cyklus	9
2.4. Disperze	15
2.5. Jarní tůň – specifický biotop	18
2.5.1. Charakteristika	18
2.5.2. Lokality na území ČR	20
2.6. Historický vývoj krajiny a výskyt organismů	22
2.6.1. Zalednění a vlivy ledovce na území České republiky	22
2.6.2. Refugia	26
2.7. Souhrn literárních poznatků	29
3. MATERIÁL A METODY	31
3.1. Lokality	31
3.2. Odběr a zpracování vzorků	32
3.3. Izolace DNA	32
3.4. Příprava templátů pro sekvenování	33
3.4.1. PCR (Polymerase chain reaction)	33
3.4.2. Přečištění PCR produktů a kvantifikace DNA	33
3.5. Sekvenování	34
3.6. Analýzy mtDNA	34
4. VÝSLEDKY	35
4.1. Odebrané lokality	35
4.2. Fyzikální a chemické parametry	35
4.3. Kvalitativní složení organismů	36
4.4. Gen pro COI	37
5. DISKUZE	45
5.1. Charakteristiky habitatu	46
5.2. Fauna	49
5.3. Příbuznost sledovaných populací	50
5.4. Disperze a vývoj osídlení současných habitatů	54
6. ZÁVĚR	59
7. LITERATURA	60
PŘÍLOHY	69

1. ÚVOD

Stojaté vody, ať už se jedná o jezera, rybníky nebo tůně, jsou charakterizovány izolovaností a hlavně nestálostí. Velké sucho nebo postupné zazemňování může způsobit, že nádrž zanikne. Proto organismy, které obývají vodní nádrže, mají řadu adaptací na nestálost svého prostředí. Nejvýznamnějšími adaptacemi je schopnost přežít vyschnutí nádrže a schopnost migrace. Pouze část vodních organismů má schopnost migrovat aktivně. Hlavní roli hraje migrace pasivní – vítr, zvířata, lidé (Brendonck & Riddoch 1999; Caceres & Soluk 2002; Figuerola & Green 2002; Green & Figuerola 2005).

Specifickým typem stojatých vod jsou periodické tůně. Cenóza periodických vod je typická řadou vzácných druhů, které se adaptovaly právě na specifické podmínky periodické tůně a často se ani jinde nevyskytují. Organismy periodických vod jsou charakteristické rychlým vývojem a přítomností stádia ve svém životním cyklu (trvalá vajíčka, larvy i dospělci), které je schopno přežít období bez vody. Nejdokonalejší formou tohoto stádia jsou trvalá vajíčka. Jsou odolná proti vyschnutí, nízkým teplotám a dokáží neporušeně projít trávicím traktem predátorů (Havel & Shurin 2004) a zpravidla jsou velmi dobrým vektorem pro šíření (pasivní migrace). Trvalá vajíčka jsou ve stavu diapauzy, tzn. mají přerušovaný růst a vývoj. Diapauza je často označována za disperzi v čase a díky tomu má vliv na genetický tok (Gyllström 2004). Vlivem migrace a kolonizace nových biotopů se mohou přenést geny z jedné populace do jiných a tak přispívat k podobnosti genů vzdálených populací (Behonak & Jenkins 2003; Havel & Shurin 2004).

Typičtí zástupci organismů, kteří se vyskytují v jarních periodických tůních na našem území jsou žábronožka sněžní (*Eubbranchipus grubii*) a listonoh jarní (*Lepidurus apus*). Vyskytují se v inundačních oblastech velkých řek (Labe, Moravy, Odry, Dyje).

Moje diplomová práce testuje nulovou hypotézu, že trvalá stadia žábronožek jsou dobrým vektorem šíření a po krajině jsou snadno roznášena. Proto se dají očekávat geneticky podobné populace v rámci jednotlivých povodí, ale i mezi geograficky vzdálenějšími povodími.

Cílem práce bylo získat co nejvíce populací *Eubbranchipus grubii*, pomocí molekulárních metod zmapovat jejich genetickou strukturu v jednotlivých povodích a

tím stanovit míru jejich příbuznosti. Genetická diverzita byla zjišťována pomocí srovnávání sekvencí úseku mitochondriálního genu cytochrom c oxidáza podjednotka 1 (COI). Ze získaných dat bylo možné odhadnout a stanovit příbuznost jednotlivých populací a geografickou fragmentaci populací.

Moje diplomová práce byla součástí mezinárodního projektu, který se nazývá Konektivita, disperze a efekt priority jako determinanty biodiverzity a fungování ekosystému na modelu společenstev malých vod (BIOPOOL) (GA ČR DIV/06/E007). Projekt byl zaměřen na osídlování nově vzniklých lokalit, na mechanismy, které to umožňují, a na hodnocení genetické struktury jednotlivých taxonů. Kromě *E. grubii* byly jako modelové druhy zvoleny *Daphnia curvirostris* a *Asellus aquaticus*. Tyto organizmy společně obývají periodické jarní tůně, ale mají odlišný způsob rozmnožování a disperze.

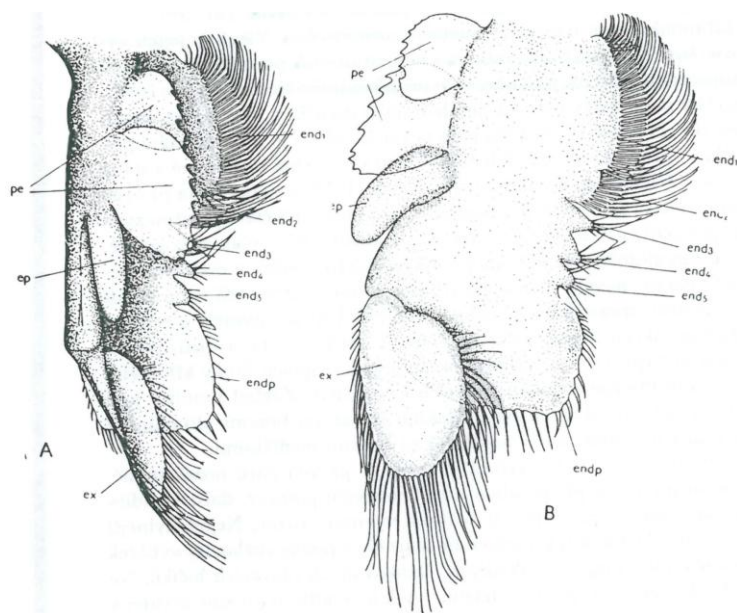
V rámci projektu BIOPOOL byl pomocí molekulárních metod porovnáván efekt různých disperzí zvolených modelových organismů na jejich genetickou strukturu v kontextu jednotlivých povodí a v rámci různých povodí na území České republiky.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Obecná charakteristika a morfologie modelového organismu

Žábronožky se systematicky řadí do třídy Branchiopoda (Crustacea). Většina zástupců obývá dočasné vody, které jsou velkou část roku vyschlé nebo můžou zůstat suché i na delší časové období. Přestože jsou žábronožky dominantními zástupci bezobratlých žijících v dočasných vodách, jsou poměrně málo prozkoumané. Zástupci řádu Anostraca se nacházejí na všech kontinentech včetně Antarktidy (*Branchinecta gaini*). Nejvíce obývají stepní oblasti a pouště. Převážnou většinu druhů můžeme nalézt ve sladkovodních vnitrozemských vodách. Jen některé druhy z rodů *Branchinella*, *Streptocephalus*, *Thamnocephalus* a všichni zástupci rodů *Parartemia* a *Artemia* žijí ve vnitrozemských salinách (Brendonck et al. 2008).

Tělo žábronožek je mírně laterálně zploštělé a ve vodním prostředí je orientováno dorzální stranou dolů. Lupenité končetiny žábronožek zajišťují tři životně důležité funkce, protože slouží současně k pohybu, dýchání a příjmu (filtraci) potravy. Každý pár končetin má stejný stavební plán.



Obr. 1: Šestá končetina *Pristicephalus carnuntanus*. A - z vnější strany v přirozené poloze; B - stejná končetina vyrovnaná do roviny. Zkratky: ep – epipodit, ex – exopodit, end – endit, endp – endopodit, pe – preeipodit. (převzato z Šrámek-Hušek 1962).

Základ končetiny tvoří protopodit a z něho vybíhají dvě větve, vnější exopodit a vnitřní endopodit. Vnější okraj končetiny nese 1-2 preepipodity (pe), 1 epipodit (ep) a exopodit (ex) a na vnitřním okraji je patrných 5 výběžků tzv. enditů (end₁₋₅) a endopodit (endp) (obr. 1). Epipodit bývá lysý a slouží k dýchání. Naopak endity a většinou i endopodit a exopodit jsou porostlé hustými hřebínky filtračních nebo plovacích brv. Končetiny se pohybují v postupných vlnách odzadu dopředu a tím umožňují brvám ve ventrální rýze posouvat částice potravy k ústnímu otvoru. Zároveň se díky tomuto pohybu končetin pohybuje celý jedinec ve vodním sloupci plynule dopředu. Kromě plynulého pohybu jsou žábronožky schopny prudce uskočit pohybem zadečku. Tento pohyb slouží jako úniková reakce před predací nebo během kopulace (Šrámek-Hušek 1962).

Díky nápadnému sexuálnímu dimorfismu lze na první pohled rozeznat dospělého samce od samice. Samci mají výrazně větší antény, které mají tvar kleští, a bývají na nich často výrazné tykadlové přívěsky. Ty jim slouží jako pomocný uchopovací orgán při kopulaci. Žábronožky jsou gonochoristé, rozmnožují se pohlavně. Pouze u zástupců rodu *Artemia* převládá partenogeneze. První dva zadečkové články téměř splývají a nesou pohlavní orgány: samčí párový penis a samičí nepárový vaječný vak (ovisak), do kterého ústí ovaria (Šrámek-Hušek 1962).

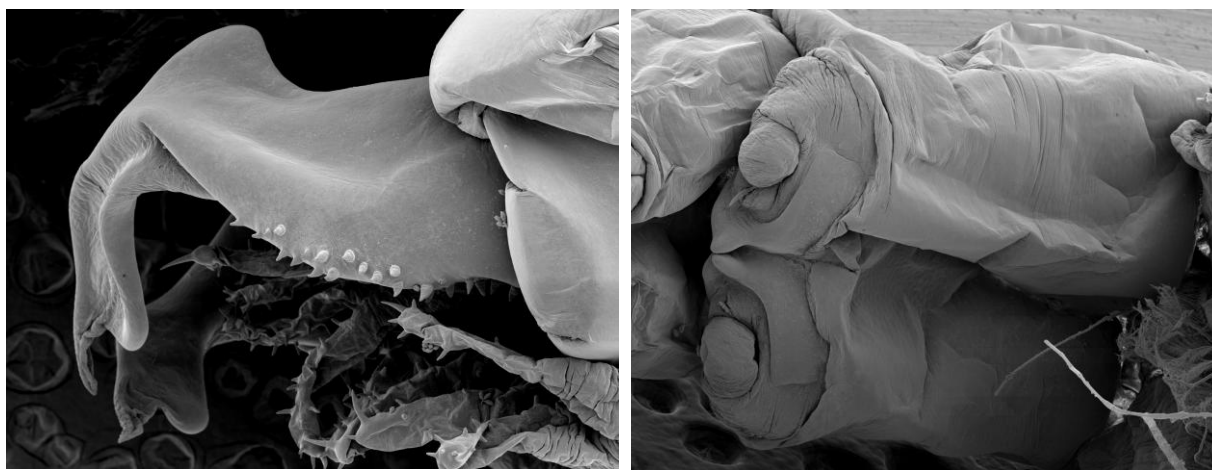
V taxonomii se více využívají samčí determinační znaky. Převážně různé tykadlové přívěsky a výběžky samčích dvoučlánekových antén, čelní výběžky na hlavě samců a odlišná morfologie párových penisů (vzdálenost penisů od sebe, zakončení penisů odlišnými trny, atd.). U samic se sleduje velikost a tvar vaječného vaku (Brendonck et al. 2008).

U žábronožek existují dvě ekologické formy, které se liší svými požadavky na prostředí, které obývají. Jarní formy žábronožek žijí v jarních periodických tůních, které jsou převážně zaplavovány průsakem spodní vody. V létě a na podzim tůně vysychají a znovu se zaplňují vodou během zimy nebo v předjaří. Jarní druhy žábronožek jsou adaptované na nízké teploty (Kavka 2000). Letní formy žábronožek žijí v příležitostně vzniklých biotopech, které se plní dešťovou vodou během vydatných letních dešťů. Nejčastěji žijí v loužích nebo ve vyježděných stopách od aut. Tyto lokality mají hlinité až jílovité dno a voda se v nich dlouho neudrží (Valoušek 1951; Kavka 2000). Letní formy jsou adaptované na teplo, protože jejich biotop se nachází na místech s přímým slunečním svitem nebo je jen částečně zastíněn. Letní formy jsou v podstatě stepní druhy žábronožek a na našem území se vyskytují do 300-350 m.n.m. (Kavka 2000).

2.2. Studovaný organismus – *Eubbranchipus grubii*

V této práci byl použit jako modelový organismus *Eubbranchipus grubii* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca), dříve *Siphonophanes grubii*. Řád Anostraca se dělí na 26 rodů a 8 čeledí (Remingo & Hebert 2000; Brendonck et al. 2008). *Eubbranchipus grubii* (Dybowski, 1860) patří do čeledi Chirocephalidae (Brtek & Mura 2000).

Zástupci druhu *E. grubii* (obr. 2) mají vždy na prvním až desátém páru končetin dva preepipodity, které mají hladké nezubené okraje. Charakteristickým determinacním znakem samců je v klidu spirálovitě stočený tykadlový výběžek na základním článku tykadel a pilovitý výběžek na protopoditu druhých antén. (Šrámek-Hušek 1962; Brtek & Mura 2000).



Obr. 2: Morfologie *E. grubii*. Vlevo: ♂ antena, vnější strana; vpravo: ♂ párový penis.

SEM foto (autor P. Juračka).

Zástupci rodu *Eubbranchipus* (Chirocephalidae) se původně vyskytují na kontinentech pocházejících z Laurasie (Severní Amerika, Evropa, Asie). Z 16 pojmenovaných, 9 druhů žije v Severní Americe, vždy severně od Mexika (Hill et al 1997).

Druh *E. grubii* obývá západní palearktidu od východní Francie přes Německo, Dánsko, Polsko, ČR, Slovensko, Maďarsko a Rumunsko až po západní část Ruska (obr. 3) (Šrámek-Hušek, 1962; Brtek & Mura, 2000).



Obr. 3: Mapa výskytu

2.3. Životní cyklus

Druh *E. grubii* patří mezi jarní druhy žábronožek adaptovaných na chlad a striktně obývá jarní periodické tůně. Tyto vlastnosti významně charakterizují její životní cyklus.

Trvalá vajíčka

V životním cyklu žábronožek hrají trvalá vajíčka klíčovou roli, protože umožňují přežití specifických podmínek periodické tůně. Průměrná velikost trvalých vajíček se pohybuje v rozmezí 200 – 400 μm (Brendonck & De Meester 2003). Většinou bývají kulatá, ale např. rod *Tanymastix* má vajíčka diskovitě zploštělá a někteří zástupci rodu *Streptocephalus* mají vajíčka čtyřboká (Fryer 1996; Brendonck & De Meester 2003). Trvalá vajíčka druhu *E. grubii* jsou kulatá.

Trvalé vajíčko obsahuje embryo ve stádiu gastruly. Embryo je zahaleno vnitřní tenkou chitinizovanou kutikulou. Nejsvrchnější obal je tvořen ze dvou vrstev, vnějšího kortexu a vnitřní alveolární vrstvy. Alveolární vrstva těsně obklopuje embryonální kutikulu a má charakter ztužené pěny s velkými vzduchovými prostory. Kortex je často, ale ne vždy, tenčí a hustší než alveolární vrstva (Fryer 1996).

Vnější obal není chitinizovaný, ale je tvrdší než chitinizovaná kutikula a díky tomu tvoří ochranný obal embrya. Vnější povrch kortexu může být velmi variabilní, např. u rodu *Chirocephalus* a *Streptocephalus* je povrchová morfologie cyst velmi různorodá (Fryer 1996; Brendonck et al. 2008).



Obr. 4: Povrchová morfologie vajíček žábronožek. Zleva doprava: *Streptocephalus indistinctus*; *Streptocephalus ovamboensis*; *Streptocephalus proboscideus* (převzato z Brendonck et al. 2008).

Někteří zástupci těchto rodů mají cysty úplně hladké, jiní mají na povrchu různé hrbolky a hřbety nebo hluboké zářezy (obr. 4). Tyto povrchové struktury mohou sloužit jako determinační znaky. Z histochemického hlediska jsou vaječné obaly tvořeny komplexy lipoproteidů s mukopolysacharidy a jsou impregnovány hemoglobinem (Fryer 1996).

Líhnutí a larvální vývoj

Podnětem k líhnutí z trvalých cyst je kombinace podmínek prostředí (teplotní změny, změny osmotického tlaku, pH a množství kyslíku) a typ habitatu (Mura & Zarattini 1999; Brendonck & De Meester 2003; Zarattini 2004).

Líhnutí u jarních druhů žábronožek významně ovlivňuje vyschnutí a přemrznutí trvalých stádií. Většina těchto druhů žábronožek vyschnutí a přemrznutí cyst toleruje a jejich cysty zůstávají životaschopné, ale vyschnutí a přemrznutí nejsou nezbytné požadavky pro následné líhnutí. Samozřejmě se tyto požadavky u některých druhů liší. Aby se začali líhnout cysty druhu *Eubbranchipus gelidus* musí nejdříve vyschnout a následně přemrznout. Cysty druhu *Eubbranchipus vernalis*, které byly vysušené, se vylíhnou mnohem dříve než cysty nevysušené (Brendonck 1996). Trvalá stádía druhu *E. grubii* tolerují vyschnutí a přemrznutí. Dříve se předpokládalo, že vyschnutí a přemrznutí je nezbytně nutné pro další vývoj (Šrámek-Hušek 1962). Ale trvalá stádía, která přemrznou do $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ mají srovnatelnou úspěšnost líhnutí jako trvalá stádía, která nepřemrznou vůbec. Jen extrémní teploty, nižší než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, které trvají více jak tři dny, jsou letální (Merta 2003b). Stejně tak absence vyschnutí nemá vliv na líhnutí (Merta 2003c).

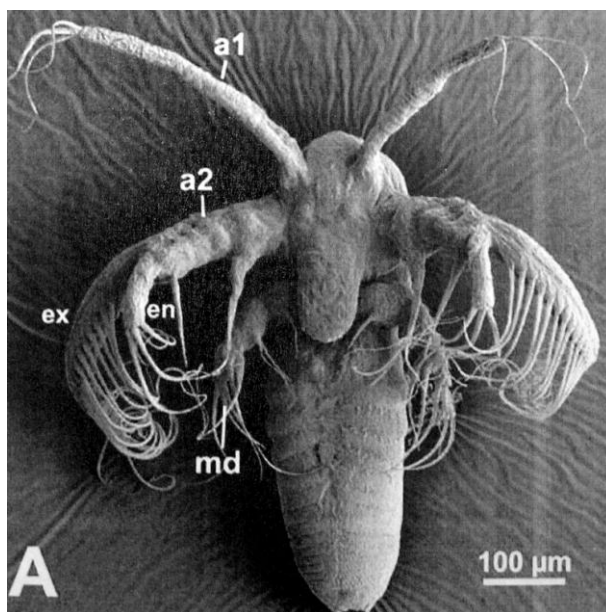
U druhu *E. grubii* je líhnutí rozděleno na dvě fáze. První fáze, tzv. prehatching, končí v okamžiku, kdy nauplius prolomí vnější vaječný obal, ale stále zůstává uzavřen v průhledné blastodermální kutikule (Mossin 1986 in Merta 2003b; Hill et al. 1997). Prehatching probíhá, když je tůň po letním vyschnutí znovu naplněna vodou. Zpravidla to bývá v rozmezí pozdního podzimu a časně zimy (listopad – prosinec), kdy spadne více dešťových srážek (Merta 2003b). Poté tůň opět vyschne a vývoj pokračuje až během dalšího zavodnění, kdy dochází ke konečnému vylíhnutí. Během této druhé fáze nauplius protrhne průhlednou kutikulu a začne volně plavat ve vodním sloupci.

Dvě fáze líhnutí jsou charakteristické i pro další jarní druhy žábronožek, např. pro severoamerické druhy *Eubbranchipus serratus*, *Eubbranchipus bundy* a evropský druh *Chirocephalus diaphanus*. Na rozdíl od jarních druhů žábronožek nikdy nebyly

pozorovány dvě fáze líhnutí u druhů letních. To je vysvětleno biotopem, který letní druhy žábronožek obývají. V dočasně vzniklých tůních nebo loužích naplněných dešťovou vodou se voda dlouho neudrží a proto musí být jejich vývoj rychlejší (Belk & Nelson 1995).

Nejmladší naupliové stádium je přibližně 670 μm dlouhé (obr. 5), má velkou hlavu a nečlámkovaný trup (Møller et al. 2004). Nauplius se během růstu svléká a při tom se zdokonaluje jeho tělesná stavba. Dalším vývojem vzniká metanauplius, který je již delší a má článkované tělo. Po rozlišení všech tělních článků se dotvářejí detaily končetin a vyvíjejí se pohlavní orgány.

Teplota ovlivňuje délku larválního vývoje. Pokud je průměrná teplota prostředí 5 °C, trvá vývoj do pohlavní dospělosti druhu *E. grubii* průměrně 6 týdnů (Kapler 1943). První samičí znaky se objeví až během 21. dne, což je až v polovině doby vývoje. Budoucí samec se pozná podle toho, že mu na základním článku druhé anteny objeví základ výběžku (Valoušek 1952). Vývoj od vylíhnutí do dospělosti trvá přibližně 2 měsíce a dospělá žábronožka žije další 1-2 měsíce. Celková délka života je až 4 měsíce (Kapler 1943).



Obr. 5: Nauplius *E. grubii* z ventrální strany.

a1 - antenuly, a2 - antény, en - endopodit, ex - exopodit, md - mandibula (převzato z Møller et al. 2004).

Rozmnožování

Základním předpokladem pro rozmnožování je zralost pohlavních orgánů. Sluneční světlo a teplo je pro žábronožky signálem, že je vhodná doba k rozmnožování. Dospělé žábronožky se začínou shlukovat v tůni a vytvářejí tzv. svatební reje. Rozmnožování má tři postupné kroky (pozice). Samička má mezi posledním párem končetin a ovisakem na obou stranách těla štěrbinu, která je orientovaná tak, že tudy může procházet paprsek přímého slunečního světla. Ve stínu pod samičkou svítí dvě světelné skvrny, které jsou přesně tak daleko jako samečkovy oči. Tento světelný impuls vyvolá u samečka reflex a zaujímá **první snubní pozici**. V té pozici plave sameček pod samičkou s očima přímo ve světelných skvrnách a přesně kopíruje její pohyb a sleduje ovisak (Valoušek 1952). První snubní pozice trvá asi jen 5 - 10 vteřin. Po té ve většině případů samec odpluje stranou (Kapler 1943).

Během **druhé snubní pozice** se samec snaží zachytit samičku. Pomocí abdominální furky se prudce vymrští a při tom rozevře kleště druhého páru antén. Na hřbetní straně těla samičky je výrazný zářez mezi toraxem a abdomenem, který se nazývá Valouškova duplikatura. Zářez slouží jako opora samečkových antenálních kleští během kopulace (Valoušek 1926; Kapler 1943).

Podaří-li se samečkovi dobře zachytit samičku, přechází pár do **třetí snubní pozice**, během které dochází k oplození. Sameček ohne abdomen k přední straně zadečku samičky a snaží se dosáhnout na distální konec ovisaku, kam vsunuje svůj dvojitý kopulační orgán. Pár postupně klesá ke dnu, protože v této pozici je udržován pouze lokomočními pohyby samičky. K oplození dochází během kopulace uvnitř vaječného vaku. Po oplození dozrávají vajíčka v cysty a zpevňují svůj vnější obal (Kraus et al. 2004). Vajíčka jsou ke stěnám vaječného vaku přirostlá svazky pružných vláken. Díky tomu se cysty mohou kyvadlovitě pohybovat a tím jsou provzdušňovány (Kapler 1943). Sameček se páří během několika hodin s více samičkami, pak slábne a hyne (Šrámek-Hušek 1962). Vajíčka zůstávají v ovisaku až do doby, kdy se blíží uhynutí samičky. Těsně před smrtí samička plave pomalu u dna a vytřásá vajíčka. Vaječný vak se znovu vajíčky neplní (Kapler 1939).

Egg bank

U většiny druhů žábronožek čerstvě nakladené cysty klesají ke dnu (Thiéry 1997; Mura 2004). Cysty (trvalá stádia, dormantní stádia, trvalá vajíčka) se hromadí v sedimentu a tvoří tzv. **egg bank**. Tento výraz je analogický se zásobou živých

roslinných semen v půdě (Hairston et al. 1995; Gyllström et al. 2004). Pokud mají semena příznivé podmínky, vyklíčí hned, ale většina semen zůstává v půdě a nezačne klíčit. Důvodem není nepřítomnost vhodných podmínek. Semena neklíčí proto, že jsou ve stavu dormance. Dormance je období, ve kterém je vývoj pozastaven. V rámci dormance lze rozlišit dva fyziologické stavy, quiescenci (klidové období) a diapauzu. Quiescence je okamžitá reakce na limitující faktor v prostředí. Vývoj a metabolismus se obnoví v okamžiku, kdy jsou okolní podmínky opět příznivé. Naproti tomu diapauza je zastavení vývoje, které je iniciováno vnitřně organismem a není přímo ovlivňováno přírodními podmínkami prostředí. Diapauza předchází nástupu nepříznivých období (Brendonck 1996; Brendonck & De Meester 2003; Gyllström et al. 2004). Trvalá stádia mohou vydržet v diapauze v rozmezí několik dní až stovek let. Klíčení se aktivuje, pokud je semeno určitý čas vystaveno působení podmínek, které ukončují dormanci. Na stejném principu funguje egg bank žábronožek (Philippi et al. 2001; Brendonck & De Meester 2003). Líhnutí ze zásoby cyst je vlivem dormance rozděleno do více let, což zaručuje přežití populace z dlouhodobého hlediska a zpomaluje eventuální vymírání populace (Bonis et al. 1995). Největší význam egg bank je v možnosti obnovy stanovišť, ze kterých „vymizely“ žábronožky v důsledku nepříznivých vlivů prostředí. Obnovení stanovišť je závislé na době, po kterou jsou trvalá vajíčka schopna v sedimentu přežít. Největší část životaschopných vajíček je v horních 4 – 6 cm sedimentu, tzv. **active egg bank** (Cáceres & Hairston 1998; Brendonck & Riddoch 2000; Brendonck & De Meester 2003; Hulsmans et al. 2006).

Distribuce

Rozmístění trvalých stádií v sedimentu ovlivňuje řada faktorů. Jednu z nejvýznamnějších rolí hrají podmínky prostředí. Vliv prostředí se nejvíce uplatňuje během vodní fáze tůně. Význam má rozmístění vegetace, hloubka a morfologické a batymetrické charakteristiky tůně, převládající směr větru na dané lokalitě a zrnitost sedimentu. Vajíčka mají tendenci se shromažďovat v nejhlubší zóně dna (Thiéry 1997). Distribuci cyst také ovlivňuje míchání vody (vítr) a sedimentu obratlovci a bezobratlými organismy (činnost bentických a edafických organismů), tzv. bioturbace. Distribuci cyst v sedimentu v tůních na našem území také výrazně ovlivňují povodně. Všechny tyto jevy mohou vysvětlit nálezy cyst v sedimentu v hloubce až 30 cm (Hairston et al. 1995).

Na rozdílnou distribuci cyst má také vliv biologie a ekologie jednotlivých druhů (Hildrew 1985; Mura 2004; Hulsmans et al. 2006). Samičky různých druhů žábronožek

mají odlišné chování během kladení. Samička druhu *E. grubii* vajíčka volně vytřásá nad dnem. Naproti tomu samička druhu *Branchipus schaefferi* plave těsně u dna a výběžkem ovisaku vytlačuje v bahně rýhu, do které odkládá vajíčka (Kapler 1939). Samička druhu *Streptocephalus torvicornis* dokonce vsunuje svůj vaječný váček do sedimentu, aby zde uvolnila své cysty. Její vaječný vak je nápadně prodloužený a umožňuje ji zasunout vajíčko do hloubky až 10 mm (Kraus et al 2004).

Distribuci trvalých stádií v sedimentu můžeme sledovat z vertikálního nebo horizontálního pohledu. Vertikální distribuce sleduje změny počtu cyst směrem od povrchu do hloubky sedimentu. Při měření vertikální distribuce v sedimentu vyschlé tůně, byl prokázán úbytek početnosti cyst směrem do hloubky (Merta 2003a). Přesto lze i v hloubce 20 cm pod povrchem najít cystu, která zůstala životaschopná (Merta 2003a; Mura 2004). Druh *E. grubii* má zpravidla nejvíce cyst v hloubce 2,5 cm pod povrchem sedimentu (Merta 2003a). Na povrchu vyschlé tůně lze měřit horizontální distribuci, která může vykazovat v jednotlivých relativních hloubkách odlišné početnosti trvalých cyst. Relativní hloubky se nedají porovnávat, protože každá tůň je různě velká a množství vody, která ji zaplavuje, je každý rok jiné. Měření prokázalo, že v okrajových částech tůně se cysty druhu *E. grubii* nevyskytují. To může být vysvětleno tím, že v době, kdy samičky kladou vajíčka, již v této části tůně nebývá voda. Nízká početnost cyst bývá v nejhlubších částech tůně. Lze předpokládat, že těmito místům se samičky při kladení záměrně vyhýbají, protože tyto části tůně bývají zaplavovány vodou i mimo hlavní zavodnění tůně a to vytváří nevhodné životní podmínky (Merta 2003a). Hlavní zásoba cyst druhu je tedy soustředěna do střední části tůně, tj. mezi okrajovou částí a mezi nejhlubší částí. Zde může početnost cyst druhu *E. grubii* dosáhnout až 435 kusů na 1 dm² (Merta 2003a).

2.4. Disperze

Distribuci organismů v prostředí ovlivňují lokální podmínky prostředí, ale také procesy jako je disperze (Havel & Shurin 2004). Přemísťují se buď jednotlivé organismy nebo jejich propagule (trvalá stádia, semena, atd). Díky disperzi mohou organismy osídlit nové lokality s větším množstvím zdrojů a menším počtem predátorů, kompetitorů a parazitů (Begon et al. 1997). Další výhodou disperze je, že zabraňuje příbuzenskému křížení (inbreeding). Disperze, ale může být i velmi riskantní. Během cesty hrozí větší riziko napadení predátorem a nakonec nové lokality nemusí být vůbec objeveny. U pohlavně rozmnožujících se organismů hrozí problém, že na nové lokalitě nenajdou vhodného sexuálního partnera. Pak může docházet ke křížení s jinými druhy, které vede ke sterilním potomkům (outbreeding depresion) (Begon et al. 1997; Bilton et al. 2001).

Disperze je aktivní nebo pasivní. Při aktivní disperzi vykonává a řídí pohyb samotný jedinec. Při pasivní disperzi je využíván nějaký vnější činitel pohybu, tzv. vektor (Begon et al. 1997; Bilton et al. 2001). Mezi hlavní vektory pasivního šíření vodních bezobratlých patří vítr, voda, živočichové a člověk. Pro žábronožky je charakteristická pasivní disperze.

Vítr

Dormantní stádia vodních bezobratlých mohou být přenášena větrem. Ale transport na dlouhé vzdálenosti (kilometry) je málo běžný a hlavně je omezený pouze na některé druhy, např.: prvoky, dafnie, vířníky (Gyllström, 2004).

Trvalá vajíčka žábronožek nejsou příliš vhodná pro transport větrem, protože jsou uložena na dně tůň. Vítr se může uplatnit pouze tehdy, když jsou lokality vyschlé a vajíčka jsou v horní vrstvě sedimentu. Transport trvalých vajíček byl prokázán na krátké vzdálenosti. Diapauzující vajíčka druhu *Branchinecta wolfi* vítr přesunul do vzdálenosti menší než jeden metr (Brendonck & Riddoch 1999).

Na území ČR jsou lokality *E. grubii* v letních měsících vyschlé a mají extrémně aridní charakter (Valoušek 1951). Proto existuje možnost přenosu cyst na krátké vzdálenosti, například do sousedící tůně. Na přenos cyst větrem má vliv i to, zda se tůň nachází na louce nebo v lese, protože síla větru se lépe uplatní v otevřeném prostoru než v lesním porostu.

Voda

Voda má obrovský význam pro disperzi. Vodní plochy, které jsou propojeny trvale nebo alespoň dočasně mohou mezi sebou zprostředkovat transport jak dospělců tak klidových stádií vodních bezobratlých (Havel & Shurin 2004).

Na našem území se tůňe, ve kterých žábronožky žijí, vyskytují v inundačním pásmu řek. V době jarních záplav nebo i při letních přívalových deštích se voda z řek rozlévá do okolí. Povodňová voda teče silným proudem a dokáže propláchnout a odplavit dnový sediment i vodu z tůňe. Tak se mohou šířit dospělé žábronožky i trvalá stadia (Měkotová et al. 1996).

Živočichové

Vodních bezobratlí hojně využívají zvířecích vektorů pro svou disperzi. Hlavně díky schopnostem trvalých stádií přežít dlouho v nepříznivých podmínkách a schopnosti vytvořit specifické struktury. Trvalá stadia dokáží přežít transport v zaživacím traktu ryb, ptáků nebo savců a při tom zůstanou životaschopná. Tvorba specifických struktur jako jsou například háčky (statoblasty mechovek), hrbolky, výčnělky nebo lepkavý obal (vajíčka lupenonožců, efípie perlooček) umožní zachytit se na povrchu živočichů (na srsti, peří, zobáku nebo nohách) (Bilton et al. 2001; Havel & Shurin 2004).

Nejvýznamějším vektorem šíření na velké vzdálenosti jsou vodní ptáci. Hlavním důvodem je jejich vysoká početnost a hlavně jejich vysoká mobilita na regionální, ale i na mezikontinentální úrovni (Charalambidou & Santamaria 2005). Mezi nejvýznamější šířitele patří především kachny, husy, labutě a plameňáci (Figuerola & Green 2002). Přenos životaschopných vajíček druhů *Artemia franciscana* a *Artemia parthenogenetica* ve výkalech migrujících ptáků byl prokázán mezi pobřežím Portugalska a Španělska (Green et al. 2005). Vodní ptáci jsou výborným vektorem šíření i na krátké vzdálenosti. Např. kachny přelétají denně až 50 km mezi nocovištěm a místy, kde se krmí (Figuerola & Green 2002; Green & Figuerola 2005). Na krátké vzdálenosti a v malém množství se uplatňuje transport pomocí jiných živočichů, např. lesní zvěř, dobytek, ondatry nebo obojživelníci (Havel & Shurin 2004).

I u druhu *E. grubii* můžeme předpokládat transport na kratší vzdálenosti pomocí živočichů. Periodické tůňe, kde se *E. grubii* vyskytuje, jsou v lese a v blízkosti řek a mohou být navštěvovány zvěří. Nejpravděpodobnějšími zvířecími vektory u nás jsou kachny, srny a divoká prasata.

Člověk

Lidská činnost výrazně ovlivňuje disperzi vodních bezobratlých. Obecně má největší vliv lodní doprava, která umožňuje transport proti proudu řek, mezi různými povodími i mezi kontinenty. Klidové stádia, larvy i dospělci vodních organismů mohou být převáženy v balastní vodě, v chladících systémech nebo přichycené na trupu lodí (Havel & Shurin 2004). Na druhou stranu může být disperze lidskou činností snižována či omezena. Hlavně výstavbou jezů a vodních nádrží na tocích (Havel & Shurin 2004). Další možností přenosu je vědomé vysazování (rybáři, akvaristé).

Na našem území může člověk roznášet trvalá stádia *E. grubii* nevědomky tím, že se pohybuje v lesích a na loukách, kde se tůň vyskytují. Lidé se v okolí tůní pohybují, ale minimálně do nich zasahují. Přesto díky člověku může být transport uskutečněn. Voda z tůní se rozlévá do okolí a často zaplavuje okolní louky a cesty. Po té co opadne voda, cysty zůstanou na cestě a mohou se zachytit se na podrážkách procházejících lidí, případně na pneumatikách cyklistických kol. Tak se mohou cysty rozšířit po okolí. Dále by se mohlo uplatitnit vědomé vysazování. Třeba akvaristé by mohli mít zájem o rozšiřování druhu *E. grubii*.

V případě úspěšné disperze dochází k toku genů z jedné lokality do druhé. Zároveň se rozšiřuje areál druhu a snižuje se riziko extinkce. Schopnost tvorby dormantních stádií umožňuje organismům přenášet geny v čase. Může docházet k přenášení genů z jedné generace do časově velmi vzdálených populací. Tak se mohou do genofondu lokální populace přinášet alely, které se zde již nevyskytují nebo které se zde vyskytují pouze v malé frekvenci. Tím se může zvyšovat genetický polymorfismus populací, případně zabránovat optimální adaptaci populace na lokální podmínky (Flégr 2005).

2.5. Jarní tůň – specifický biotop

2.5.1. Charakteristika

Tůň je sladkovodní ekosystém, který se nachází zejména v nivách řek či potoků. Nejčastěji vzniká oddělením od mrtvých ramen toků nebo zatopením terénních depresí, výmolů i umělých prohlubní. Za normálního stavu vody není spojena se samotným tokem (Machar 1998).

Dno jarní tůně leží pod hladinou spodní vody. Během inundace stoupá říční hladina a zároveň stoupá hladina spodní vody. Tůň je zaplavována infiltrací spodní vody v nejhlubší části dna. Voda, která zaplaví tůň, pochází z roztátého sněhu z hor s podílem vody srážkové. Ze sněhu z okolí samotné tůně je vody jen velmi málo (Šrámek-Hušek 1940; Valoušek 1951). Při velké oblevě mohou být tůně přeplaveny povodňovou vodou shora. Aby mohl být ukončen celý životní vývoj žábřonožek, musí voda v tůni vydržet 3 měsíce (Valoušek 1951; Měkotová et al. 1996).

Tůň se plní vodou při první větší oblevě. Ta může nastat třeba i v prosinci, ale nejběžnější je během února až března (Valoušek 1951). V tomto období voda v tůni přes noc vytváří ledovou pokrývku. V noci voda stagnuje a u dna je voda s maximální hustotou o teplotě 4 °C. Přes den se tůň rychle prohřívá. Svrchní vrstva ledu taje a brzy se teplota vody v celé tůni vyrovná a následně je u hladiny voda nejteplejší. Odpoledne a k večeru začínají svrchní vrstvy vody opět promrzat a dochází k cirkulaci v opačném směru. Voda v tůni se míchá dvakrát za den (Valoušek 1951). Průměrná teplota inundační vody v tůni většinou nepřesahuje 5 °C. Voda se někdy začne ohřívat nad 5 °C a může dosáhnout až na 12 – 24 °C. To se děje pouze krátkodobě, když prudce svítí slunce během teplých dnů v dubnu nebo začátkem května (Valoušek 1951).

Na líhnutí druhu *E. grubii* má vliv řada faktorů, které působí komplexně. Mezi klíčové faktory patří teplota, koncentrace kyslíku a množství živin.

E. grubii se líhne výhradně za teploty 0 - 4 °C, což je teplota, kterou má voda tajícího ledu a sněhu. Proto je druh *E. grubii* striktně vázaný na biotop jarní periodické tůně (Valoušek 1926; Merta 2003b). Larvální vývoj může probíhat i pod ledem, ale velký mráz zpomaluje až zastavuje růst a vývoj (Kapler 1943). Přijde-li první jarní obleva příliš brzy, často pak následuje promrznutí celého vodního sloupce což je pro vylíhnutá nauplia letální (Brendock 1996; Simovich & Hathaway 1997; Brendonck &

Riddoch 2000). Vajíčka, která se nevylíhla při první příležitosti, se líhnou za podobných podmínek později, tedy při další oblevě (Kapler 1939; Brendonck et al. 1998; Mura 2004). Dříve vylíhlí jedinci mohou lépe využít podmínek snížené konkurence v tůni. Později vylíhlí jedinci riskují, že zdroje prostředí mohou být už vyčerpány. To je základ teorie **bet-hedging strategy** (strategie sázka proti ztrátě). Podle této teorie je variabilita líhnutí jedinců odpovědí na podmínky prostředí (Brendonck & Riddoch 2000; Brendonck & De Meester 2003; Ripley et al. 2004). Podíl vajíček, která se každoročně vylíhnou, by měl být přibližně rovný pravděpodobnosti, že dojde k jejich vysoké produkci, tzn. doplnění egg banky.

Vyschlá jarní tůň se může v létě na krátkou dobu zaplnit srážkovou vodou. Během letního zavodnění k líhnutí nedochází, protože není vhodná teplota. Teplota 20 °C a více inhibuje líhnutí (Mossin 1986 in Merta 2003b).

Dalším klíčovým faktorem ovlivňující líhnutí z trvalých vajíček *E. grubii* je koncentrace kyslíku. Pravidelné střídání cirkulace a stagnace vody má velký význam pro provzdušňování vody v tůni. Při nízkých teplotách voda dobře adsorbuje kyslík prostou difuzí (Šrámek-Hušek 1940; Valoušek 1951). Nízké koncentrace kyslíku mají negativní vliv na líhnutí. Při poklesu kyslíku pod 2 mg.l⁻¹ dochází k zastavení líhnutí z trvalých vajíček (Merta 2003c). Jarní periodické tůně přes léto vysychají a díky tomu nevznikají nepříznivé kyslíkové podmínky v horních vrstvách dnového sedimentu, kde jsou vajíčka uložena (Merta 2003c).

Průsakem spodní vody je voda přitékající do tůně filtrována. Tato čistá voda sem nepřináší žádné organizmy ani jejich zárodky (Valoušek 1951). Koncentrace živin je nízká. Žábronožky nesnášejí eutrofizované vody.

Lesní tůně, které jsou zastíněny okolními stromy, mají dno pokryto vrstvou tlejícího listí. Žábronožky se živí organickým detritem z tohoto tlejícího listí. V lučních tůních, které jsou více prosvětlené, zpravidla není vrstva tlejícího listí. Zde se žábronožky živí řasami a mikroskopickým fytoplanktonem, který se zde vyskytuje (Šrámek-Hušek 1940; Valoušek 1951).

Při porovnávání fyzikálně - chemických parametrů vody (O₂, pH, redox potenciál, vodivost) nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi vodami v tůních, kde se žábronožky *E. grubii* vyskytovaly, a tůněmi, kde chyběly (Šrámek-Hušek 1940; Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996).

Přirozeně chráněná poloha jarní periodické tůň zabraňuje přístupu některým predátorům a díky tomu je v jarní periodické tůni nízký predanční tlak (Box et al. 2006). Hlavními predátory jsou ptáci a listonozi. Tůň většinou nejsou příliš velké a díky tomu na nich nezastavují vodní ptáci hojném počtu. Jen některé lesní tůň v blízkosti řek občas navštěvují kachny. Z vlastního pozorování lze říci, že výjimkou jsou velké luční rozlity, které jsou ptáky hojně navštěvovány. Jarní tůň nejsou spojeny s hlavním tokem řek a díky tomu se v nich nevyskytují ryby. Pouze v případě silné povodňové vlny, když dochází k přelití říční vodou se shora, se mohou ryby v tůni objevit. Jejich přítomnost má potom decimující vliv na populaci žábronožek v tůni (Kapler 1943; Valoušek 1951).

Časová izolace je další důležitou podmínkou rozvoje žábronožek. Druh *E. grubii* svým časným a rychlým životním vývojem bojuje proti predátorům, kteří jsou také vázáni na biotop jarní tůň (Valoušek 1951). Typickým predátorem žábronožek je listonoh jarní (*Lepidurus apus*). Líhne se až v polovině března a umírá koncem května. Pokud žábronožky nestihnou svůj časnější nástup, je jejich populace listonohem zcela zdecimována (Kapler 1943), což můžeme potvrdit vlastním pozorováním v terénu.

2.5.2. Lokality na území ČR

Na území České republiky se *E. grubii* vyskytuje v poříčních nivách. Periodické tůň se nejčastěji nacházejí na plochých územích podél středního a dolního toku řek Labe, Odry, Moravy a Dyje. Na tato území se rozlévá inundační voda až do šíře několika kilometrů a krajina je zde charakteristická svými lužními lesy, loukami a mokřady. Zde se nacházejí nívné půdy tzv. fluvizemě, jejichž vývoj je určován kolísající hladinou podzemní vody nebo záplavami, a je přerušován sedimentací naplaveného materiálu. Podloží těchto půd jsou zpravidla pleistocénní zvodnělé štěrkopísky, často mocnosti několika desítek metrů, přikryté holocénními povodňovými hlínami. Neustálé působení fluvialních krajinnotvorných procesů (např. posouvání koryta řeky boční erozí, tvorba a přesuny štěrkopískových lavic a ostrůvků v řece, vznik a zánik bočních ramen a poříčních jezer, sedimentace povodňových hlín atd.) má vliv na dynamický vývoj říčního toku a okolní nivy (Machar 1998).

Lužní lesy jsou z ekologického hlediska velmi cenné biotopy a proto se často lokality výskytu druhu *E. grubii* nacházejí na chráněných územích (CHKO) nebo na

maloplošných chráněných územích (NPR, NPP, PR, PP). Na území ČR patří *E. grubii* mezi kriticky ohrožené druhy (Farkač et al. 2005).

V České republice je největším rozsáhlým územím s dosud nenarušenou dynamikou říčního toku CHKO Litovelské Pomoraví. Další významný komplex lužních lesů je na soutoku Moravy a Dyje. CHKO Poodří tvoří přirozeně meandrující řeka Odra s rozsáhlými aluviálními loukami, které jsou přerušované malými plochami lužních lesů. Do kategorie národní přírodní rezervace (NPR) patří např. NPR Polanská niva (Moravskoslezský kraj), NPR Žebračka (Olomoucký kraj), NPR Ramena řeky Moravy (Olomoucký kraj), NPR Vrapač (Olomoucký kraj), NPR Libický luh (Středočeský kraj). Do kategorie přírodní rezervace patří např. PR Polanský les (Moravskoslezský kraj), PR Království (Olomoucký kraj), PR Litovelské luhy (Olomoucký kraj), PR Panenský les (Olomoucký kraj), PR Hejtmanka (Olomoucký kraj) (Machar 1998).

Samozřejmě, že ne vždy patří lokality periodické tůně přímo do chráněných území, příkladem jsou umělé jámy nebo přirozené příkopy podél železničních tratí, kde se také často *E. grubii* vyskytuje.

2.6. Historický vývoj krajiny a výskyt organizmů

Z geografického hlediska mají periodické tůně během inundace charakter povodňového jezera (Valoušek 1951). V létě nivy velkých řek vysychají, klima má aridní charakter, který se podobá stepi. V zimě území kolem velkých řek promrzá a většinou je pokryto nepatrnou vrstvou sněhu. Dočasné jarní vody vykazují geologické poměry glaciálního vodního života. Recentní rozšíření žabronožek není náhodné, ale poukazuje na pleistocénní vývoj našeho území v předešlých geologických obdobích (Valoušek 1951).

Hlavní geomorfologické pochody, jako např. utváření říčních sítí, tvorba mořského pobřeží atd. probíhaly v třetihorách. Současný vzhled zemského povrchu byl a stále je ovlivňován geomorfologickými procesy čtvrtohor. Čtvrtohory začaly přibližně před 2 milióny let a trvají do současnosti. Dělí se na starší období **pleistocén** (1,8 - 0,01 miliónů let před současností) a mladší **holocén** (od konce pleistocénu do současnosti) (Ložek 2001). Během čtvrtohor dochází k cyklickým změnám podnebí. Studená období, tzv. glaciály (doby ledové), se střídají s teplými obdobími, tzv. interglaciály (doby meziledové) (příloha 6). S klesající teplotou v glaciálech přibývalo srážek a vznikaly ledovce, které pokrývaly rozsáhlé oblasti v severních pásmech Ameriky i Eurasie. Ledovce vázaly obrovské množství vody a docházelo k poklesu hladiny světových moří o 120 - 140 m. Díky tomu docházelo ke změnám tvaru a rozsahu kontinentů (Ložek 2007).

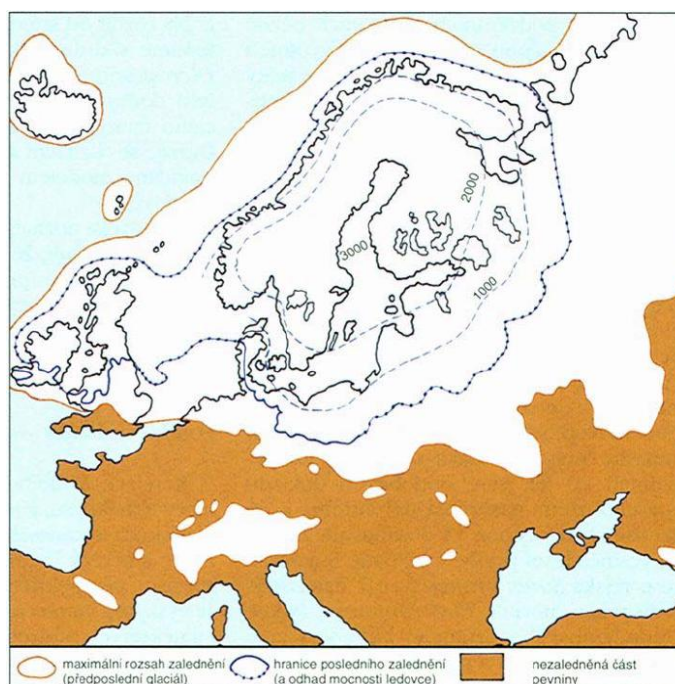
V třetihorách bylo naše dnešní území jednotvárnou rovinou s mírně zdviženými okraji. Až během čtvrtohor začalo naše území získávat dnešní podobu. Vytvářely se údolí a některé oblasti získaly hornatý ráz (Ložek 1973).

2.6.1. Zalednění a vlivy ledovce na území České republiky

Během glaciálů se území našeho státu nacházelo v nezaledněném periglaciálním koridoru mezi kontinentálním ledovcem severní Evropy a horským zaledněním v Alpách (obr. 6). Tento nezaledněný pás spojoval nezaledněné oblasti na západě a východě Evropy (Ložek 2007). Reliéf našeho území byl v době periglaciální zóny formován mrazovou, větrnou a říční erozí.

V průběhu glaciálů naše území zasáhl jižní okraj pevninského zalednění dvakrát. A to během salského glaciálu a elsterského (halštrovského) glaciálu (příloha 6). Vždy se

ledovec dotýkal pouze okrajových oblastí dnešní České republiky. Nejmladší, viselský ledovec na naše území nezasáhl (Růžička 2004, [1]).

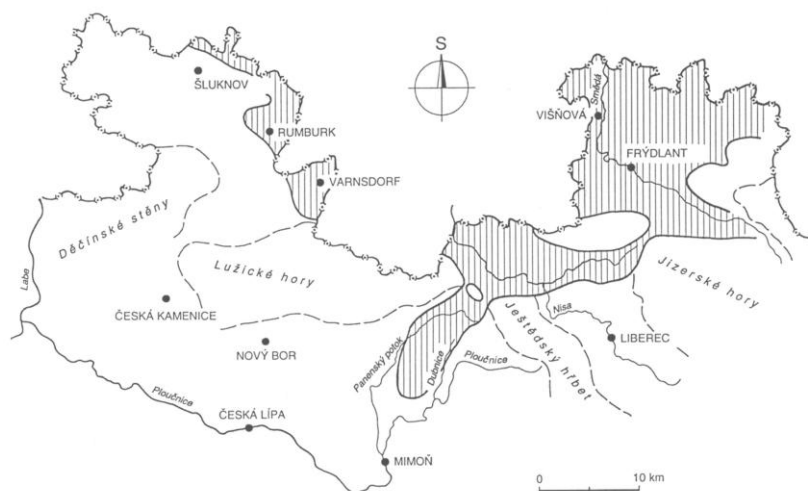


Obr. 6: V glaciálech tvořila ČR leduprostý koridor mezi severoevropským a alpským zaledněním [1].

Přítomnost dvou typů ledovců na našem území dosvědčují ledovcové sedimenty. Skandinávský kontinentální ledovec zasáhl do Slezska a na severní Moravu a do severních Čech (Růžičková et al. 2001). V severních Čechách nejsou důkazy přítomnosti pevninského ledovce tak patrné jako na severní Moravě a ve Slezsku. Přesto jde vysledovat kam až ledovec v severních Čechách zasáhl. Důkazem jsou glaciofluviální sedimenty a akumulace ledovcového materiálu (till). Till byl a v současnosti stále je těžen jako šterkopísek v Horní Řasnici na Frýdlantsku [1].

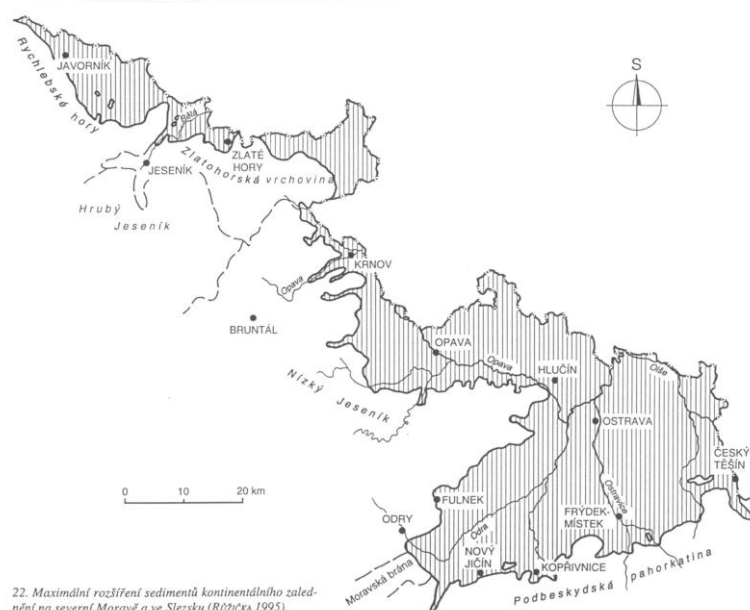
Pozůstatky horského zalednění lze najít na Šumavě, v Krkonoších, v Hrubém Jeseníku, Králickém Sněžníku a v Beskydech (Růžičková et al. 2001). Ledovcová jezera na Šumavě a v Krkonoších jsou pozůstatky posledního, würmského alpského zalednění. Tvary reliéfu, které vznikly vlivem horského zalednění, jsou kary (skalní amfiteátry vytvořeny mrazovým zvětráváním) a trogy (údolí modelovaná ledovcovým splazem). Labský důl v západních Krkonoších je jediným dobře vyvinutým trogem na našem území [1].

Během středního pleistocénu, jak v průběhu halštrovského tak i sálského zalednění, zasáhl Skandinávský kontinentální ledovec severní Čechy (příloha 6). Pevninský ledovec pokryl úzké pohraniční oblasti Šluknovského výběžku a Libereckou kotlinu (obr. 7). Ve Frýdlantském výběžku se čelo pevninského ledovce ocitlo až v povodí Ploučnice a zanechalo zde čelní morénu (Růžicková et al. 2001).



Obr. 7: Maximální rozšíření sedimentů kontinentálního zalednění v severních Čechách (převzato z Růžicková et al. 2001).

Dále ledovec během halštrovského a sálského zalednění zasáhl sever Moravy a Slezska (obr. 8); v Polsku vyplnil ledovec sever Kladské kotliny, u nás Javornický a Osoblažský výběžek (tj. podhůří Rychlebských hor a Hrubého Jeseníku), kde se zastavil ve výškách kolem 400 m n. m. Větší plochy dosáhl pevninský ledovec v oblasti Opavska a Ostravska a jeho nejjižnější hranici lze dokumentovat v Moravské bráně, což byl nejjižnější průnik pevninského ledovce v západní a střední Evropě. V sálském glaciálu (příloha 4) pevninský ledovec pronikl až do povodí Bečvy (do tzv. Porubské brány) (Růžicka 2004; Czudek 2005).



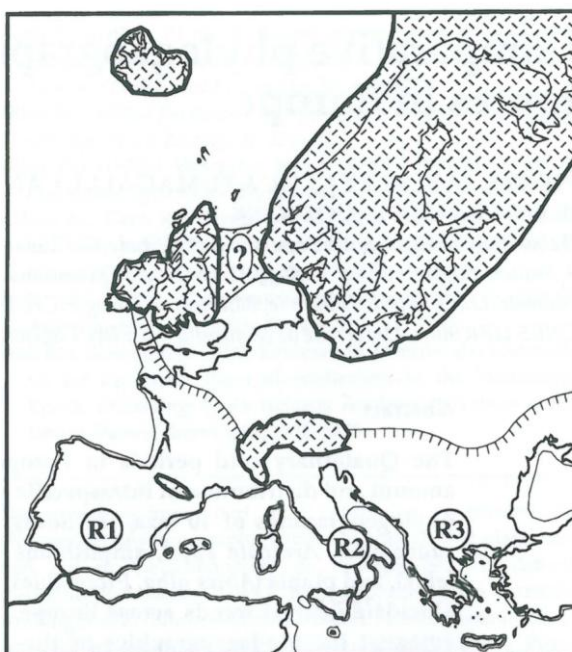
Obr. 8: Maximální rozšíření sedimentů kontinentálního zalednění na severní Moravě a ve Slezsku (převzato z Růžičková et al. 2001).

Základním znakem čtvrtohor je kolísání podnebí a posun klimatických pásem od severu k jihu. Odhaduje se, že teplá období, kam patří doby meziledové a doba poledová (holocén), byla proti současnosti o 2 – 3 °C teplejší. Roční průměrné teploty se pohybovaly kolem 10 – 12 °C. Zároveň byla teplá období vlhčí. Roční srážky byly až o 75 – 100 % vyšší než jsou dnes. Pro meziledové doby střední Evropy je charakteristické úplné zalesnění. Povrch našeho území byl pokryt bujnou vegetací a řeky vytvořily stálá meandrující koryta (Ložek 1999). Během teplotního optima holocénu na našem území rostly listnaté lesy a v Polabí a na jižní Moravě se zformovala lesostep (Ložek 1999).

Během ledových dob byla průměrná roční teplota -3 až -4 °C a proti současnosti je to pokles asi o 11 – 13 °C (Ložek 1973). Během glaciálů na povrch terénu silně působil mráz a vítr a v krajině převládalo bezlesí. Většina území měla charakter tundry. Na hřebenech hor byla kamenitá tundra a nížiny měly charakter studených stepí. Vodní toky měly divočejší ráz a vytvářely síť mělkých stále se měnících koryt ve štěrkopískových nánosech. Během glaciálu docházelo k vodní erozi, což vedlo k zahlubování vodních toků a také k eolické činnosti, která způsobovala silný odnos zvětralin a jejich následné ukládání (Ložek 1973).

2.6.2. Refugia

Klimatické změny během kvartéru měly obrovský vliv na rozšíření dnešní fauny a flóry a zásadně formovaly ekosystémy do dnešní podoby. Opakovaným střídáním glaciálů a interglaciálů byly organismy donuceny ustupovat před postupujícím ledem a tundrou do refugií (Hewitt 1999; Kotlík & Berrebi 2001; Ložek 1999; Taberlet et al. 1998; Seddon et al 2002). Nástup nové doby ledové vždy probíhal v postupných vlnách takže většina organismů měla čas postupně se stáhnout do území, kde mohla glaciaci přežít (Ložek 2001). Během interglaciálů docházelo k opětné expanzi rostlinných i živočišných druhů z jednoho nebo z více refugií (Hewitt 1999).



Obr. 9: Refugia (převzato Taberlet et al. 1998).

Historické rozšíření druhů a společenstev bylo sledováno na základě nálezů fosílií a pylu (paleontologie a palynologie). S rozvojem molekulárních metod se do popředí dostává fylogeografie, obor sledující geografickou distribuci genealogických linií. Hlavní oporou fylogeografie je mitochondriální DNA, která dokáže popsat vnitrodruhovou geografickou strukturu. Molekulární data jsou velmi užitečná k identifikaci druhů, které kolonizovaly Evropu po poslední době ledové z různých refugií.

Pro mnoho organismů byla popsána tři základní refugia - **Italské**, **Iberské** a **Balkánské** (obr. 9). Severní evropské regiony pravděpodobně byly kolonizovány hlavně z Iberského a Balkánského refugia (Taberlet et al. 1998; Nesbø et al. 1999; Seddon et al. 2001). Šíření organismů směrem na sever z italského refugia bylo blokováno přítomností Alp (Seddon et al 2002).

Geografická oblast, kde se setkávaly odlišné populace po postglaciální expanzi se nazývá hybridní zóna (suture zone). V Evropě jsou čtyři hlavní zóny (obr. 10).



Obr. 10: Hlavní postglaciální kolonizační cesty a následné hybridní zóny v Evropě (převzato Taberlet et al. 1998).

První zóna zcela odpovídá oblasti Alp. Alpská bariéra odděluje italské linie organismů od linií, které se vyskytují na západ a na sever od Alp. Proto se v Itálii vyskytuje mnoho endemitů (Taberlet et al. 1998). Mezi italské endemické druhy žábronožek patří druh *Chirocephalus marchesonii*, *Ch. sibylae* a *Ch. ruffoi* (Ketmaier et al. 2003). Druhá zóna odpovídá spojení mezi populacemi z Iberského refugia a populacemi východního původu (balkánské refugium nebo refugia více na východě) někde kolem hranice mezi dnešní Francií a Německem. Třetí zónu představují Pyreneje. Poslední zóna se nachází ve Skandinávii a potvrzuje kolonizaci ze severu i z různých jižních refugií (Taberlet et al. 1998; Hewitt 1999).

Fylogeografické studie sledují jak terestrické bezobratlé a obratlovce (Taberlet et al. 1998; Hewitt 1999; Seddon et al. 2001) tak i ryby (Nesbø et al. 1999; Bernatchez et al. 1998; Kotlík & Berrebi 2001) a vodní bezobratlé (Cox & Hebert 2001; Vainio et al. 2003; De Meester & De Gelas 2005; Verovnik et al. 2004).

Změny klimatu a následné posuny fauny a flory od severu k jihu a zpět jsou jasně patrné i na území dnešní České republiky. Každá geografická oblast (České středohoří, Český a Moravský kraj atd.) má odlišnou dynamiku těchto posunů, která je doložitelná lokálními fosíliemi (Ložek 2007).

2.7. Souhrn literárních poznatků

Periodické jarní tůně jsou příkladem habitatu, který je z geografického hlediska fragmentovaný a je časově nepředvídatelný. Organismy, které obývají tento typ habitatu jsou vhodnými modelovými organismy pro studium působení náhodných vlivů na strukturu populací (Davies et. al. 1997). Námi vybraný druh *E.grubii* je typickým obyvatelem těchto vod a jeho životní strategie plně odpovídá tomuto nestálemu prostředí.

Životní strategie, která umožňuje přežít navzdory nepředvídatelným podmínkám prostředí má charakteristické rysy: rychlý vývoj jedinců do dospělosti, schopnost přežít vyschnutí v podobě trvalých cyst (Ripley et al. 2004), tvorba egg bank (Hairston et al. 1995; Gyllström et al. 2004) a schopnost pasivní disperze (Bilton et al. 2001; Havel & Shurin 2004). Existence egg banky umožňuje znovu intodukovat do populace alely a genotypy z předchozích sezón. Tento časový genetický tok může ovlivňovat rychlost evoluce uvnitř jarních periodických tůní tzn. populační strukturu a zároveň, díky pasivní migraci, i rozdíly mezi populacemi. Primárním vlivem regulujícím rozdílnost mezi populacemi je tok genů prostřednictvím migrace (Davies et. al. 1997). Akumulace odlišných genotypů v egg bank a jejich náhodná reintrodukce může znamenat stabilizaci uvnitř populace a tlumení efektu selekce, genetického driftu a disperze (Davies et. al. 1997).

Území České Republiky je malé, ale z hlediska geografické polohy významné a jedinečné. Vyskytují se zde jarní druh (*E.grubii*) i letní druhy (*Branchipus schaefferi*, *Streptocephalus torvicornis*, *Pristicephalus carnuntanus*) žábřonožek. Jarní druhy zde mají nejjižnější areál výskytu a letní druh naopak nejsevernější (Kavka 2000; [2]).

Další jedinečností našeho území je to, že zde prochází tři hlavní evropská rozvodí. K povodí Odry, která odtéká do Baltského moře, náleží území na severní Moravě a ve Slezsku a dále pak menší území na severu a severovýchodě Čech. Dunaj odvádí vodu do Černého moře. I když přímo naším územím Dunaj neprotéká, řeka Morava s přítokem Dyje odvádí do Dunaje vodu z většiny území Moravy. Labe odvádí vodu do Severního moře [3].

Naše území má i význam z hlediska glaciální historie, hlavně vzhledem ke klíčové poloze mezi dvěma centry zalednění. Během glaciálů měly rozsáhlé oblasti

v periglaciálním koridoru jednotný charakter prostředí. Dokladem je téměř jednotná glaciální malakofauna od Porýní až na východ Ukrajiny (Ložek 2001). V průběhu glaciálů se z území ztratila fauna a flora, která byla náročnější na teplotu. Tyto oblasti byly rekolonizovány rozsáhlou migrací, která je charakteristická pro interglaciální období. Tyto migrace byly složité a nikdy neprobíhaly stejným způsobem (Ložek 2007). Prokazatelné je, že během interglaciálů a samozřejmě i v současnosti dochází k šíření různých druhů z jižnějších oblastí. Migrace z jihovýchodních oblastí byly na naše území častější než migrace z jihozápadu (Ložek 2001).

3. MATERIÁL A METODY

3.1. Lokality

Informace o výskytu žábronožek jsme získávali ze starší literatury (Hrabě 1937; Kapler 1938; Valoušek 1951). Cenné informace o recentních nalezištích nám poskytli B. Mocek, M. Kloupar, M. Rulík a L. Merta.

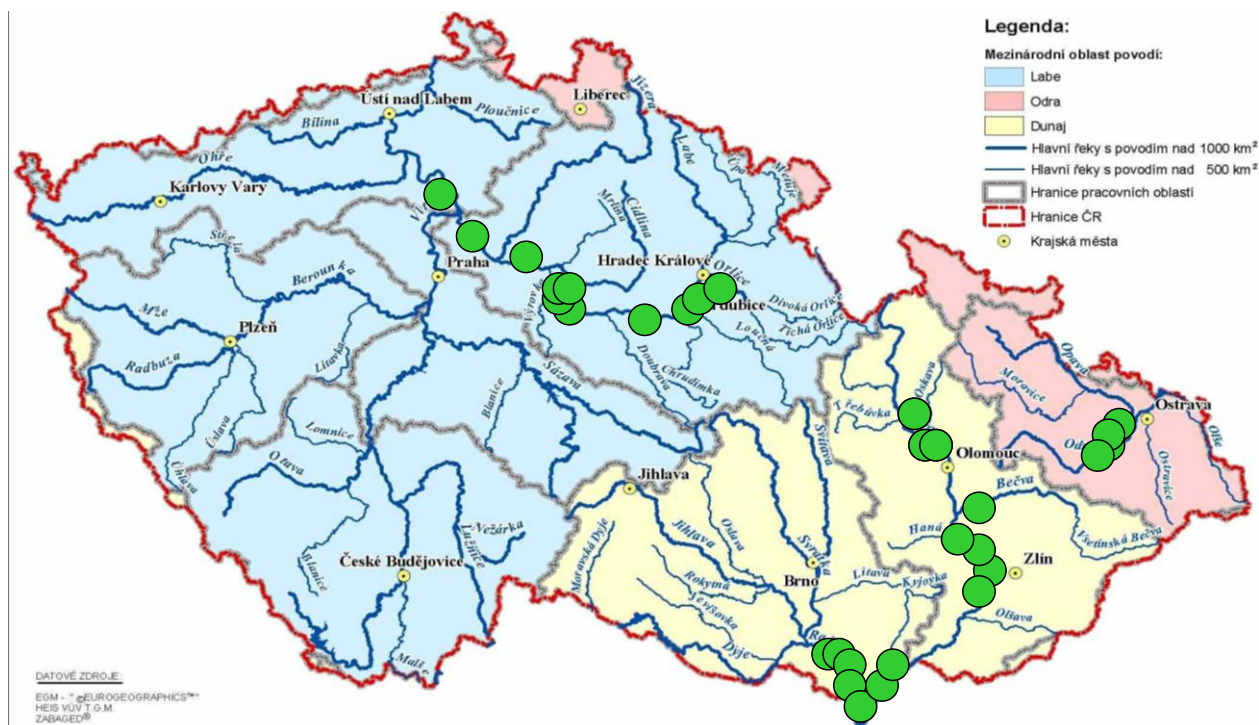
Při odběrech jsme se soustředili na čtyři hlavní oblasti (obr. 11):

Polabí – střední Čechy, soutok Labe a Vltavy; východní Čechy – Pardubicko, Hradecko s lokalitami v povodí řeky Orlice

Poodří – severní Morava

Pomoraví – střední Morava, Litovelské Pomoraví; Přerov – lokality v povodí řeky Bečvy; **soutok Moravy a Dyje** – jižní Morava.

Seznam odběrových lokalit je v příloze 1. Soubor podrobných map je v příloze 8.



Obr. 11: Mapa odběrových míst

3.2. Odběr a zpracování vzorků

Vzorky jsme odebírali během 3 odběrových sezón. Termíny odběrů byly závislé na aktuálním vývoji zavodnění tůní během daného roku. V roce 2005 se odběr konal od 20.4. do 28.4., v roce 2006 od 24.4. do 13.5 a v roce 2007 od 21.3. do 21.4.

K odběru jsme používali planktonní síť (velikost ok 100 μ m) na teleskopické tyči a cedníky. Z každé tůně jsme odebírali kvantitativní a kvalitativní vzorek celkového zooplanktonu. Pro genetické analýzy byly žábronožky fixovány 96% etanolem. V případě početných populací žábronožek byl odebrán živý vzorek, který byl umístěn v přenosné ledničce. Po skončení odběrového dne se v laboratoři přebíraly živé vzorky, které byly zmrazeny tekutým dusíkem. Po návratu z celkového odběru jsme vzorky vyndali z tekutého dusíku a uskladnili při -79 °C. Všechny vzorky byly řádně označeny a popsány.

Každou lokalitu jsme vyfotografovali a zaměřili polohu pomocí GPS. V roce 2007 jsme navíc společně s odebíráním vzorků měřili základní chemické a fyzikální parametry. Sondou YSI 506 jsme měřili množství rozpuštěného kyslíku (mg.ml⁻¹; % nasycení), pH, teplotu (°C) a vodivost (μ S.cm⁻¹). Koncentraci chlorofylu *a* jsme zjišťovali pomocí terénního fluorometru Aqua Fluor (Turner Designs). Po naměření fluorescence chlorofylu v terénních vzorcích bylo množství chlorofylu *a* přepočítáno z kalibrační křivky. Průhlednost vody jsme měřili Snellerovou trubicí.

3.3. Izolace DNA

Tkáň z lupenité končetiny *E. grubii* jsem vložila do mikrozkmavky s předem namíchaným roztokem proteinázy K (50 μ l). Složení roztoku vychází z práce Schwenk et al. (1998). Mikrozkmavku jsem umístila do topného bloku nastaveného na 55 °C, nejméně na 4 hodiny nebo nejlépe přes noc. Poté jsem denaturovala proteinázu při teplotě 95 °C po dobu 10 minut. DNA izoláty jsem skladovala při 4 °C.

3.4. Příprava templátů pro sekvenování

3.4.1. PCR (Polymerase chain reaction)

PCR jsem využila pro amplifikaci mitochondriálního genu cytochrom c oxidáza podjednotka 1 (COI) o délce fragmentu 680 bp (páru bazí). Pro PCR jsem používala primery (Folmer et al 1994):

primer A: 5' - GGTCAACAAATCATAAAGATATTG – 3'

primer B: 5' - TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT – 3'

Amplifikační reakce (PTC-100TM Programmable Thermal Controller, program CO1): úvodní denaturace při 94 °C po dobu 1 minuty, následovalo 37 cyklů při teplotách: 94 °C – 1 min., 48 °C – 1 min., 68 °C – 2 min., závěrečná extenze: 68 °C po dobu 7 minut.

PCR směs jsem připravovala v objemu, $V = 50 \mu\text{l}$: 34,5 μl H₂O, 5 μl 10x PCR pufr, 1,5 μl = MgCl₂ (50mM), 1 μl = dNTPs (2mM), 1 μl = primer A, 1 μl = primer B, 1 μl = Taq polymeráza, 5 μl = extrahované DNA.

Kontrolu PCR produktů jsem prováděla horizontální elektroforézou (Gibco BRL Horizontal Gel Eletrohoresis Apparatur) na 1,5% agarósovém gelu s 1,5 μl EtBr. Elektroforéza probíhala 30 minut pod napětím 180 V a proudem 500 mA. Na gel jsem nanášela 1 μl PCR produktu smíchaný s nanášecím pufrem (loading buffer). Délku amplifikovaných fragmentů jsem srovnávala se standardem Mass Ruler DNA Ladder, Low Range. Digitální fotoaparátem připevněným na UV lampě jsem archivovala snímky gelů.

3.4.2. Přečištění PCR produktů a kvantifikace DNA

PCR produktu jsem přečistila kitem Min Elute PCR Purification Kit Protoco. Po purifikaci jsem provedla kontrolní elektroforézu. Koncentraci DNA ($\text{ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) jsem měřila spektrofotometricky pomocí přístroje NanoDrop Spectrophotometer ND-1000.

3.5. Sekvenování

Pro sekvenování vzorků jsem využila Laboratoř sekvenace DNA (Centrum servisních laboratoří biologické sekce PřF UK, <http://www.natur.cuni.cz/~sedinova>). Před sekvenční reakcí jsem smíchala primer A, templát a vodu do objemu 14 μl . Koncentrace templátu se pohybovala v intervalu 5 - 20 $\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$.

Laboratoř pro sekvenační reakci používá kit od firmy Applied Biosystems: BigDye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit. Na přečištění sekvenční reakce laboratoř používá sodný acetát (3M) a ethanol. K analýze sekvencí byl použit automatický čtyřkapilárový sekvenátor 3100 Avant Genetic Analyzer. Optimálně se získá 650 bází. Hotové sekvence laboratoř zasílá na e-mail ve formátu *.ab1.

3.6. Analýzy mtDNA

Získané sekvence jsem editovala pomocí programu BioEdit Sequence Alignment Editor. Sekvence jsem manuálně zkontrolovala a seřadila pomocí algoritmu ClustalW. Analýzy sekvencí jsem dále provedla v programu MEGA verze 3.1. (Kumar et al. 2004).

Pro znázornění podobnosti jednotlivých haplotypů jsem použila analýzu Neighbor-Joining algoritmus pomocí Kimura dvouparametrového modelu. Jako outgroup jsem použila jiný druh ze stejného rodu, označený jako Eubbranchipus sp. (AF209061) pocházející z Ontária v Kanadě (Remigo & Hebert 2000). Jeho sekvenci jsem vyhledala na internetu v databázi NCBI.

Pro výpočet p-distance jsem použila stejné nastavení jako při konstrukci fylogenetického stromu. Také jsem počítala nukleotidové složení sekvencí.

4. VÝSLEDKY

4.1. Odebrané lokality

Celkem bylo navštíveno 120 lokalit na území České republiky během tří odběrových sezón (2005, 2006, 2007). Odebraných populací druhu *E. grubii* bylo 95. Seznam odběrových lokalit je v příloze 1. Z celkového počtu populací bylo 44 lokalit z povodí Moravy a Bečvy, 9 lokalit z povodí Dyje, 9 lokalit bylo na území soutoku Dyje a Moravy, 17 lokalit z povodí Odry, 15 lokalit z povodí Labe a Orlice a 1 lokalita byla na soutoku Labe a Vltavy. Příloha 8 obsahuje soubor podrobných map odběrových lokalit.

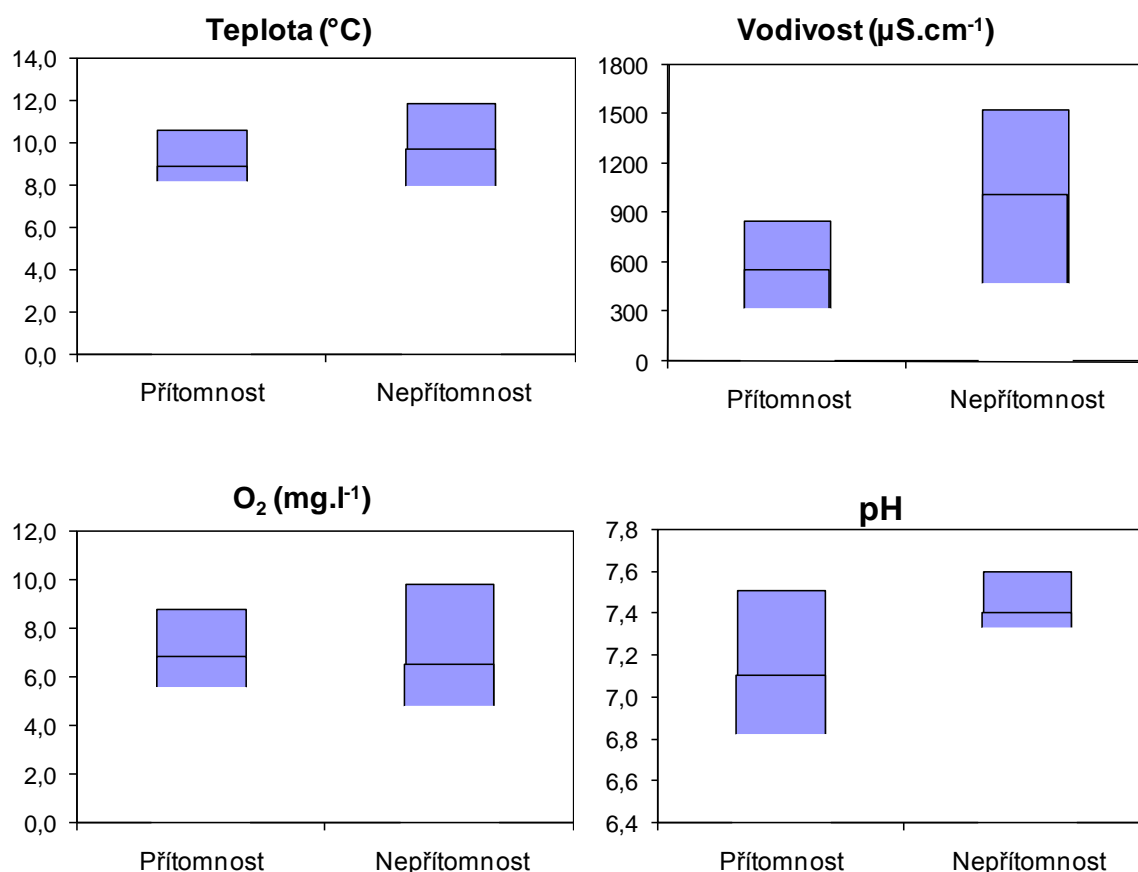
4.2. Fyzikální a chemické parametry

Během odběrové sezony v roce 2007, kdy probíhalo měření základních fyzikálních a chemických parametrů, bylo navštíveno 69 lokalit. Základní parametry, které jsme měřili, byly: teplota vody ($^{\circ}\text{C}$), pH, vodivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), množství rozpuštěného kyslíku ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; % nasycení) a množství chlorofylu *a* ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$). Z celkového počtu navštívených tůní byly tyto parametry měřeny v 63 tůních. Ve 43 tůních (68,3 %) byl nalezen druh *E. grubii*. Z 6 lokalit, kde nebyly měřeny parametry se *E. grubii* vyskytovala ve dvou tůních (MD 43 sou16; L 71 kokor). Výsledky měření fyzikálních a chemických parametrů jsou zpracovány tabulkově v příloze 7.

Vliv teploty, vodivosti, množství rozpuštěného kyslíku a pH na přítomnost *E. grubii* byl testován porovnáním mediánu (tab. 1), který byl znázorněn pomocí krabčkových grafů (graf 1). V případě teploty, množství rozpuštěného kyslíku a pH nebyl nalezen rozdíl mezi sledovanými parametry na lokalitách s přítomností *E. grubii* a lokalitách, kde se *E. grubii* nevyskytovala. Porovnání hodnot vodivosti ukazuje, že *E. grubii* preferuje nižší hodnoty.

Tab. 1: Porovnání fyzikálních a chemických parametrů

	přítomnost				nepřítomnost			
	teplota	vodivost	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	teplota	vodivost	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH
Median	8,9	552,5	6,9	7,1	9,7	1014,0	6,5	7,4
1. kvartil	8	292,3	5,4	6,8	7,8	450,0	4,6	7,3
3. kvartil	10,6	856,3	8,8	7,5	11,9	1530,0	9,9	7,6



Graf 1: Grafické znázornění měřených parametrů.

Vliv množství chlorofylu *a* na přítomnost *E. grubii* v tůňce nebyl testován, protože se všechny naměřené hodnoty pohybovaly v rozmezí 4,4 - 4,5 μg.l⁻¹. V tůňkách, kde se žábřonožky vyskytovaly, byla naměřena nejmenší průhlednost vody 8 cm a nejvyšší 51 cm. Průměrná průhlednost vody byla 33,5 cm. Na lokalitách, kde nebyly žábřonožky, byla nejmenší průhlednost 16 cm a nejvyšší 46 cm. Průměrná průhlednost vody v těchto tůňkách byla 30,3 cm. Hodnoty maximální hloubky a plochy nebyly změřeny u všech 63 sledovaných tůňek. Plocha tůňek, kde se vyskytovaly žábřonožky, byla v rozmezí 4 – 10 000 m². Maximální hloubka se pohybovala v rozmezí 15 – 100 cm.

4.3. Kvalitativní složení organizmů

Nejtypičtější faunu dočasných vod tvoří různé skupiny korýšů. Pravidelně se v tůňkách vyskytovali jedinci ze skupiny Cladocera: *Daphnia curvirostris*, *Daphnia pulex*, *Simocephalus* sp.; Copepoda: Cyclopoida, Calanoida; Isopoda: *Asellus aquaticus*;

Amphipoda. Vzácnější výskyt je u druhu *Lepidurus apus* (Notostraca). V roce 2007 jsme na sledovaných lokalitách jeho přítomnost zaznamenali 4 krát. Na třech lokalitách se vyskytoval společně s druhem *E. grubii* a na jedné lokalitě samostatně (příloha 6). Dále se v tůních vyskytuje *Mochlonyx* sp., *Chaoborus* sp., larvy vážek (Odonata), chrostíků (Trichoptera): *Glyphotaelius pellucidus*, *Nemotaulius punctatolineatus* a brouků (Coleoptera). Vzácněji se v tůni vyskytují Ostracoda a Turbellaria.

4.4. Gen pro COI

Pro analýzu byla zvolena část genu pro cytochromoxidázu *c*. Délka analyzovaného fragmentu byla 618 párů bází. Jako outgroup (blízcě příbuzný taxon použitý pro zakořenění stromu) byla použita sekvence *Eubbranchipus* sp. z práce Remigio a Hebert (2000) populace z jarní tůně v Ontariu, Kanadě. V podílu jednotlivých bází v sekvenci DNA stejně jako u ostatních mitochondriálních genů převažovala dvojice A-T (A-T: 60,9 %, G-C: 39,1 %). Počet variabilních míst byl (bez outgroup) 59 z 618, z toho informativních pro parsimonii (vhodných pro fylogenetickou analýzu) 51 míst. Po přeložení sekvencí DNA do sekvence aminokyselin nebyla nalezena žádná variabilita, všechny analyzované populace jsou identické.

Pro amplifikaci části genu kódujícího podjednotku I enzymu cytochrom oxidáza (COI) jsem použila všech 95 vzorků. Z každé populace byli osekvenováni 1 – 3 jedinci (příloha 2). Výsledný soubor sekvencí o délce 618 bp jsem použila ke konstrukci fylogenetického stromu metodou Neighbor-Joining (příloha 3). V tomto stromu je všech 136 sekvencí. Topologie byla testována pomocí bootstrap testu (500 opakování), hodnoty jsou uvedeny v uzlech stromu (příloha 4).

Sledované populace ze čtyř povodí se rozdělily do dvou hlavních skupin. První skupina zahrnuje populace z povodí Labe, Moravy a Dyje. Populace z povodí Odry se vyčlenily do druhé skupiny. Pro větší přehlednost jsem zařadila barevné schéma výsledného fylogramu (obr. 12). První skupina se rozdělila do dvou podskupin. První podskupinu tvoří populace z povodí Labe a Moravy jsou označené modrou barvou. Druhá podskupina zahrnuje populace z povodí Dyje a soutoku Moravy a Dyje a jsou označeny žlutou barvou. Červená barva označuje populace z povodí Odry, které patří do druhé skupiny. Za použití stejného barevného rozlišení jsou na mapě ČR znázorněny jednotlivé populace žábronožek podle příbuznosti (obr. 13).

K výpočtu párových rozdílů mezi sekvencemi jsem použila stejné nastavení jako u fylogramu. Rozdíl mezi podskupinami Morava-Labe a Dyje je 1,7 %, rozdíl mezi skupinou Morava-Labe a druhou skupinou Odra je 5,3 % a rozdíl mezi druhou skupinou Odra a podskupinou Dyje je 5,7 % (tab. 2).

Tab. 2: P-distance; párové rozdíly v sekvencích části genu pro COI mezi skupinami. K výpočtu použit Kimura dvouparametrový model.

	[1]	[2]	[3]
[1] Morava-Labe	0,053		
[2] Odra			
[3] Dyje			
	0,017	0,057	

Rozdíly v sekvencích v rámci skupiny Odra je 0,2 %. U obou podskupin (Morava-Labe a Dyje) se neprokázala žádná divergence (tab. 2).

Tab. 3: P-distance; odhad rozdílů v sekvencích části genu pro COI uvnitř skupin. K výpočtu použit Kimura dvouparametrový model.

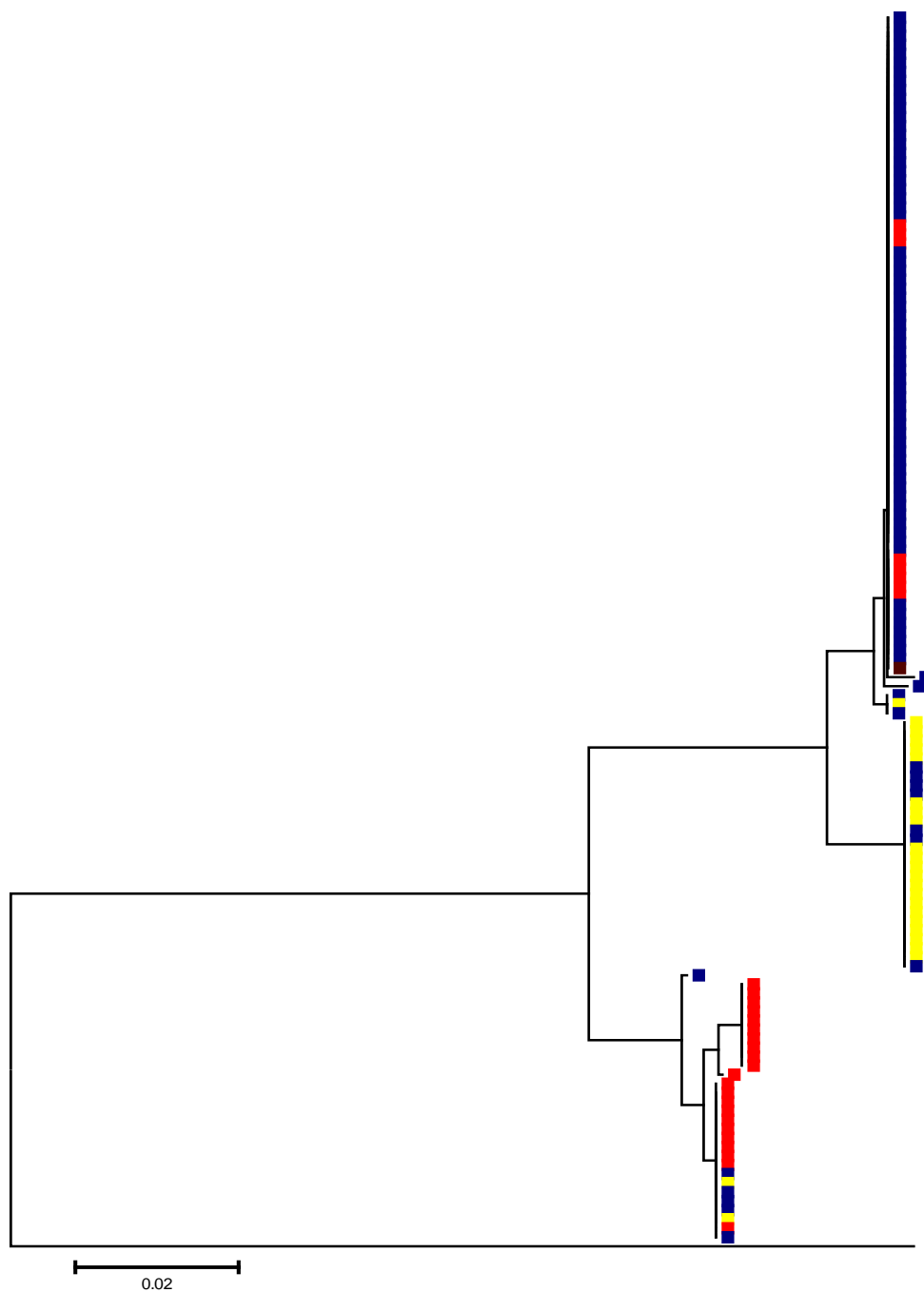
	d
[1] Morava-Labe	0,000
[2] Odra	0,002
[3] Dyje	0,000

Z fylogramu je patrné, že se všechny analyzované populace rozdělily do 9 haplotypů (příloha 3). Pro zjišťování variability byl vybrán za každý haplotyp jeden zástupce. Vnitrodruhová variabilita sekvencí je v rozmezí 0,2 – 6,2 % (tab. 4).

Tab. 4: P-distance; párové rozdíly v sekvencích části genu pro COI. Za každý haplotyp byl vybrán jeden zástupce. K výpočtu použit Kimura dvouparametrový model.

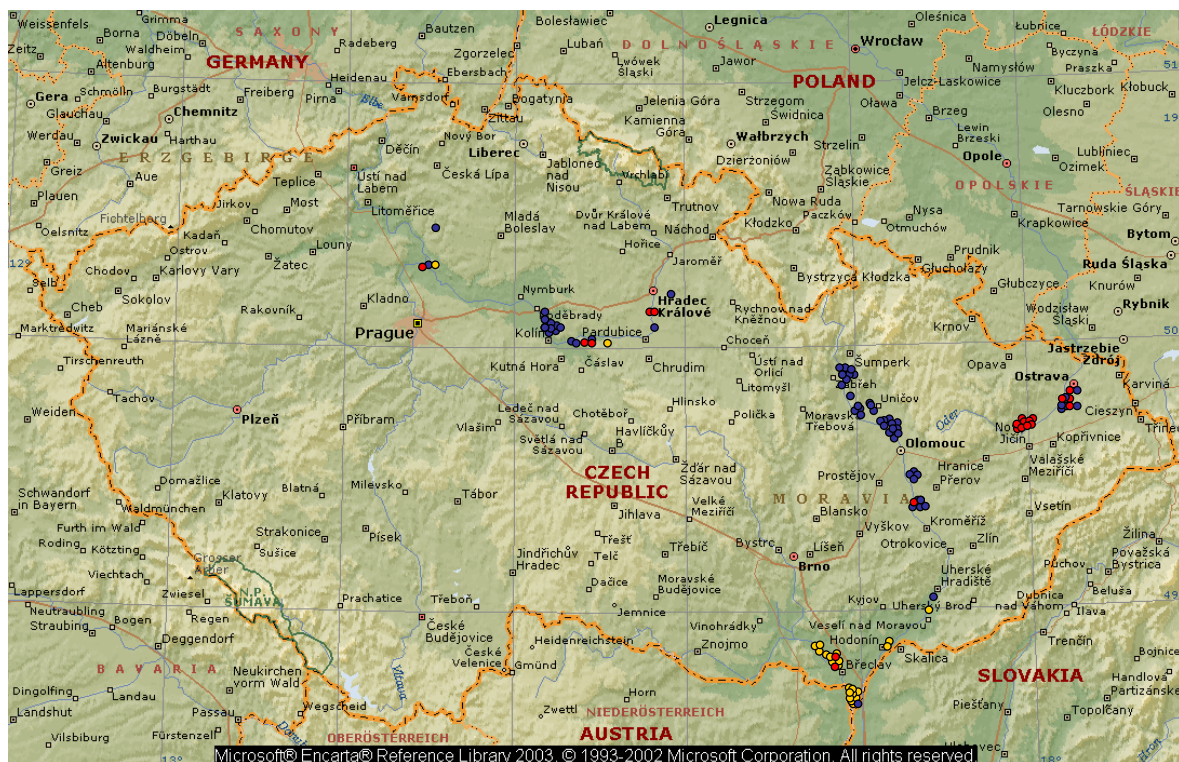
Označení sekvencí je vytvořeno systémem: první písmeno názvu řeky, v jejímž povodí se lokalita nachází; jedinečné číslo lokality v průběhu odběrových sezón; 5 písmen z názvu lokality; číslo jedince, z celkového počtu analyzovaných jedinců v populaci. Kódy lokalit viz. příloha 1.

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]
[1] O 87 such12.2/2									
[2] O 89 such14.1/2	0,004								
[3] O 85 such10.1/2	0,002	0,002							
[4] L 74 libi1.1/1	0,060	0,060	0,062						
[5] L 31 zabo4.2/3	0,060	0,060	0,062	0,008					
[6] MD 41 sou14.1/1	0,053	0,058	0,056	0,006	0,006				
[7] MD 42 sou15.1/2	0,060	0,060	0,062	0,020	0,020	0,018			
[8] M 53 mora3.1/1	0,058	0,058	0,060	0,006	0,002	0,004	0,018		
[9] L 69 ceper.2/2	0,008	0,012	0,010	0,058	0,058	0,051	0,058	0,055	
celkový průměr	0,036								



Obr. 12: Barevné schéma výsledného fylogramu vytvořeného metodou NJ.

Modrou barvou jsou označeny populace žábronožek z povodí Labe a Moravy. Žluté značky označují populace z povodí Dyje a ze soutoku Moravy a Dyje. Červená označuje populace z povodí Odry.



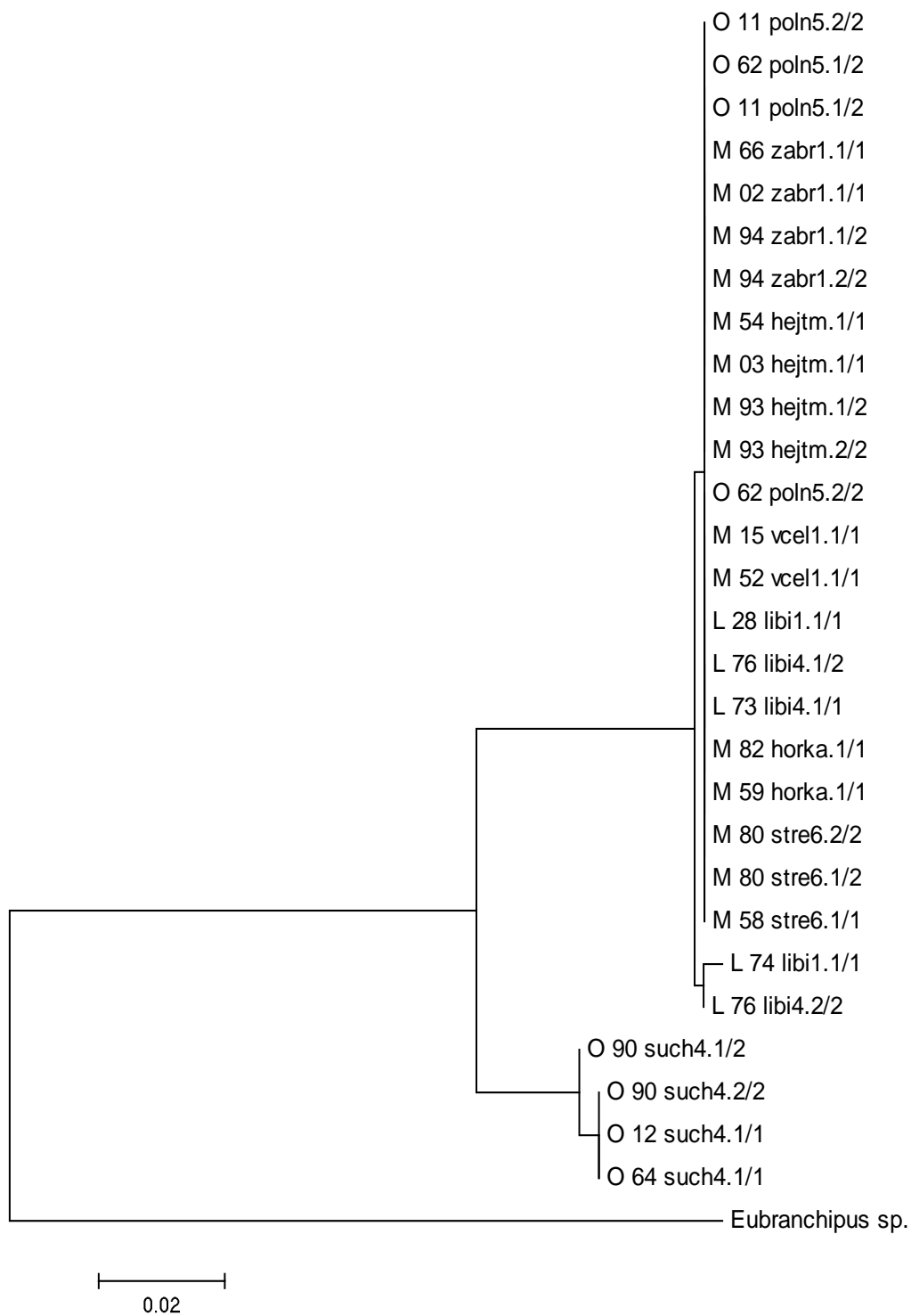
Obr. 13: Mapa ČR, na které jsou znázorněny jednotlivé populace žabronožek podle příbuznosti

Devět lokalit bylo v průběhu tří odběrových sezón navštíveno opakovaně (tab. 5). Na třech lokalitách byly odebrány vzorky během všech odběrových sezón. Šest lokalit bylo navštíveno dvakrát.

Tab. 5: Opakovaně odebrané populace žábronožek. Kódy lokalit v příloze 1.

povodí	lokalita	2005	2006	2007
Odra	Suchdol 4	O 90 such4	O 12 such4	O 64 such4
Morava	Hejtmanka 1	M 93 hejtm	M 03 hejtm	M 54 hejtm
Morava	Zábřeh 1	M 94 zabr1	M 02 zabr1	M 66 zabr1
Odra	Polanská niva 5		O 11 poln5	O 62 poln5
Morava	Včelín 1		M 15 vcel1	M 52 vcel1
Labe	Libice 1	L 74 libi1	L 28 libi1	
Labe	Libice 4	L 76 libi4		L 73 libi4
Morava	Horka 1	M 82 horka		M 59 horka
Morava	Střeň 6	M 80 stre6		M 58 stre6

Ze 28 sekvencí lokalit odebraných opakovaně jsem sestrojila fylogenetický strom metodou NJ, který zachycuje vnitropopulační variabilitu populací v čase (obr. 14). Kromě dvou populací (O such4; L libi1) se všechny populace zařadili do stejné skupiny a mají i stejný haplotyp. Ze vzorku populace O such4, která byl odebrána v roce 2005, (O 90 such4.1/2; O 90 such4.2/2) byli analyzováni dva jedinci. Oba se zařadili do skupiny Odra, každý s jiným haplotypem. Jedinci analyzováni ze stejné tůně, z následujících odběrových sezón (O 12 such4.1/1; O 64 such4.1/1) se zařadily do stejného haplotypu jako O 90 such4.2/2. Jedinci z populace L libi1 se zařadili do stejné skupiny, ale do odlišného haplotypu.



Obr. 14: Fylogram z 28 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ. Fylogram zobrazuje vnitrodruhovou variabilitu populací v čase. Měřítko odpovídá 2 % rozdílu v nukleotidovém složení sekvencí. Kódy lokalit jsou v příloze 1.

V 32 populacích bylo analyzováno více jedinců (příloha 2). Z těchto sekvencí byl sestrojen fylogenetický strom metodou NJ, který zachycuje vnitrodruhovou variabilitu druhu *E. grubii* (příloha 5). Pro větší přehlednost jsem označila výsledné sekvence barevně. Zeleně jsem označila jedince v populaci, kteří se zařadili do stejné skupiny a stejného haplotypu. Takových bylo 22. Černě jsou označeny sekvence jedinců, kteří jsou ve stejné skupině, ale mají odlišný haplotyp. Takto se zařadili jedinci ze 4 populací. Šest populací jsem označila oranžovou barvou, která označuje jedince, kteří se rozdělili do různých skupin a haplotypů. Ve fylogenetickém stromu jsou ponechány barevně neoznačené sekvence patřící populacím, ve kterých byl analyzován jen jeden jedinec.

5. DISKUZE

Druh *E. grubii* striktně obývá jarní periodické vody. Toto prostředí je nestálé, ale druh *E. grubii* se mu svojí životní strategií plně přizpůsobil a v jiných typech prostředí se nevyskytuje. Dočasné vody jsou specifickým biotopem stojatých vod, jehož unikátní podmínky jsou vhodné pro studium ekologických souvislostí nebo biotických a abiotických interakcí. Z geografického hlediska je to biotop fragmentovaný a díky tomu je ideální pro výzkum genetické variability, toku genů a kolonizace nových prostředí. Druh *E. grubii* je na území České republiky nejhojnější žábřonožkou, přestože patří mezi kriticky ohrožené druhy. Typické lokality výskytu se nacházejí zejména v nivách řek či potoků. Naše území je zajímavé z hlediska vlivu na genetickou variabilitu, protože zde pramení velké evropské řeky a je zde tedy evropské rozvodí oddělující povodí Severního, Baltského a Černého moře. Tato rozvodí se stýkají nedaleko od Kralického Sněžníku (obr. 15).



Obr.15: Hlavní evropská rozvodí [3].

V této práci jsem se pokusila objasnit otázku, zda se žábronožky mohou dobře šířit krajinou a jaká bude tedy distribuce populací v krajině a jejich vzájemná příbuznost. Poloha lokalit na našem území umožnila položit si také otázku, nakolik úzce je příbuznost populací spjata s příslušností ke konkrétnímu povodí.

Tato předkládaná práce je první studie genetické variability druhu *E. grubii*. Sleduje genetickou strukturu populací ve vybraných povodích řek na území České republiky. Oproti jiným studiím (Behonak 1998; Boileau et al. 1992; Brendonck et al. 2000; Davies et al. 1997; Ketmaier et al. 2005) bylo analyzováno poměrně velké množství populací. Celkem bylo analyzováno 95 populací druhu *E. grubii* ze všech oblastí současného výskytu tohoto druhu.

5.1. Charakteristiky habitatu

Tůň, kde se vyskytuje druh *E. grubii*, má sice jednotný charakter, ale zároveň se v mnohém mohou lišit (Šrámek-Hušek 1940; Valoušek 1951). Z našeho tříletého sledování se jako nejvýraznější vlastnost těchto habitatů jeví jejich velká proměnlivost v čase. Tůň jsou velmi citlivé na hydrologické podmínky daného roku, jejich existence závisí zejména na množství srážek v zimních měsících. V letech 2005 – 2007 byly podmínky velmi různorodé. V roce 2005 byla většina navštívených tůní naplněna na horní hranici objemu a populace organismů byly bohaté. Zároveň však bylo jaro poměrně teplé, a tak tůň na jižní Moravě byly v době našeho odběru již téměř vyschlé a nepodařilo se nám odebrat žádné populace *E. grubii*. V roce 2006 postihly zejména severní Moravu povodně a tůň byly značně poničené vodou, která jimi proudila. Populace žábronožek byly málo početné a na mnoha lokalitách populace ani nestihly nastoupit. Zároveň jsme proti roku 2005 zaznamenali zvýšený výskyt listonohů. V roce 2007 byla velmi krátká zima s nízkými srážkami a z toho důvodu bylo v tůních velmi málo vody. Přestože lokality již vysychaly, nacházeli jsme převážně nedospělé jedince. Na lokalitách na severní Moravě jsme dokonce nacházeli žábronožky ve stádiu metanuplia. Rychlost vývoje žábronožek na těchto lokalitách byla pravděpodobně zpomalena poklesem teploty a napadnutím sněhové pokrývky v tomto regionu v průběhu časného jara.

Z našich pozorování vyplývá, že organizmy, které tůň obývají, tedy i žábronožky, musí být dobře adaptované i na situaci, kdy je habitat pro jejich rozvoj vhodný jen jednou za několik let. Podobná pozorování uvádějí i (Šrámek-Hušek 1940;

Valoušek 1951; Hairston 1996). Šrámek-Hušek během pozorování Polabských tůní zaznamenal, že na některých lokalitách lze každoročně sledovat vývoj druhu *E. grubii* a zároveň každý rok zaznamenal několik náhodných tůní s výskytem žábronožek (Šrámek-Hušek 1940).

Z hlediska velikosti jsou tůně značně variabilní. Námi sledované tůně, kde se žábronožky vyskytovaly, měly plochu v rozmezí 4 – 10 000 m². To odpovídá našemu terénnímu pozorování, kdy druh *E. grubii* může žít v malých „loužích“, například v městských parcích, nebo naopak ve velkých tůních, které mají charakter slepých říčních ramen, dlouhých až několik kilometrů. Ty jsou velmi typické pro CHKO Litovelské Pomoraví a v hanáckém dialektu bývají označovány jako smuhy (Měkotová et al. 1996). Na námi sledovaných lokalitách se druh *E. grubii* vyskytoval v tůních s maximální hloubkou v rozmezí 15 – 100 cm, což odpovídá dřívějším pozorováním. Například Šrámek-Hušek uvádí, že nejčastěji žije ve vodách s maximální hloubkou 1,5 m (Šrámek-Hušek 1940).

Přítomnost žábronožky *E. grubii* v tůních mohou ovlivňovat chemické a fyzikální parametry vodního prostředí. Srovnáním naměřených parametrů (pH, množství rozpuštěného kyslíku, teplota, vodivost) na sledovaných tůních jsme chtěli zjistit, zda existuje rozdíl mezi sledovanými parametry na lokalitách s přítomností *E. grubii* a lokalitách, kde se *E. grubii* nevyskytovala. Srovnání parametrů (pH, množství rozpuštěného kyslíku, teplota) neprokázalo žádný rozdíl. Pouze u srovnání hodnot vodivosti z našich výsledků vyplývá, že *E. grubii* preferuje nižší hodnoty vodivosti.

Ke stejným závěrům došli i další badatelé (Šrámek-Hušek 1940; Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996). Šrámek-Hušek se snažil testovat vliv pH na lokalitách v Polabí, ale neprokázal žádný rozdíl mezi tůněmi s výskytem a bez výskytu *E. grubii* (Šrámek-Hušek 1940). Další sledování vlivu fyzikálních a chemických parametrů probíhalo v oblasti CHKO Litovelské Pomoraví (Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996). Ani zde žádný sledovaný parametr (pH, množství rozpuštěného kyslíku, redox-potenciál, vodivost) neprokázal, že existuje statisticky významný faktor, který ovlivňuje přítomnost či nepřítomnost *E. grubii*. A to ani na malém souboru dat (Rulík & Měkotová 1995) ani na velkém souboru dat (Měkotová et al. 1996). V první zmíněné práci byl testován menší soubor tůní, tj. 43 tůní, kde byla přítomnost *E. grubii* prokázána ve 23 tůních (53,5 %) (Rulík & Měkotová 1995). Následně byl výzkum na stejném území rozšířen na sledování 167 jarních tůní, kde v 87 tůních (52,1 %) bylo

nalezena *E. grubii* (Měkotová et al. 1996). V naší studii bylo zahrnuto 63 tůní a žábronožka *E. grubii* se vyskytovala ve 43 tůních (68,3 %). Z toho bylo 11 tůní s výskytem druhu *E. grubii* v oblasti CHKO Litovelské Pomoraví. Díky vysokému procentuálnímu zastoupení se může zdát, že je druh *E. grubii* hojný. Na našem území patří mezi kriticky ohrožené druhy takže oblasti, kde se vyskytuje, bývají často vyhlášeny jako chráněná území. Zde jsou jeho přirozené biotopy chráněny a proto zde má ideální podmínky pro výskyt. V naší studii je také vysoké procento výskytu *E. grubii* v tůních, což je způsobeno tím, že jsme se snažili cíleně vybírat potenciální žábronožkové lokality.

To, že Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996 nezaznamenali na rozdíl od nás větší výskyt druhu *E. grubii* v tůních s nižšími hodnotami vodivosti může, být vysvětleno tím, že naše měření zahrnuje lokality s odlišných povodí. Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996 porovnávali vodivost v tůních na lokální úrovni, v rámci CHKO Litovelské Pomoraví. V rámci jedné oblasti mají tůně shodný zdroj zavodnění a hodnoty vodivosti jsou si podobné. Z námi získaných hodnot vodivosti, měřených v periodických tůních ze všech oblastí současného výskytu tohoto druhu na našem území lze vysledovat, že hodnoty vodivosti vody v tůních na jižní Moravě a na některých lokalitách v Polabí jsou vyšší než hodnoty vodivosti na severní Moravě a v Litovelském Pomoraví. Zde se vodivost vody v tůních pohybuje v rozmezí 200-800 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Obecně se hodnoty vodivosti povrchových vod pohybují v rozmezí 50-500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Periodická tůň je biotop s nestabilním zavodněním a vysoké hodnoty mohou poukazovat na vysychání tůně. Jak voda v habitatu vysychá, roste koncentrace látek, zvyšuje se teplota a snižuje se saturace kyslíkem (Bonner et al. 1997). Zároveň je z naměřených hodnot patrné, že druh *E. grubii* se může vyskytovat v tůních s vysokou vodivostí vody. Žábronožka se například vyskytovala na lokalitě Kančí 3, kde jsme změřili vodivost 1888 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. Na území Kančí obory je mírně zasolená půda, ale její vliv na vodu v tůních bývá zmírňován ředěním vodou z řeky Dyje, která má vodivost kolem 500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (Heteša 2003). Vysoké hodnoty vodivosti zřejmě nemají vliv na přítomnost či nepřítomnost druhu *E. grubii* v tůni. Námi naměřené hodnoty budou zřejmě poznamenány dobou, kdy jsme měřili, zda v daném okamžiku byla tůň zaplněna v maximálním objemu nebo již začala vysychat.

Protože sledované abiotické faktory se neprokázaly jako významné, zdá se, že důležitější pro výskyt *E. grubii* budou hydrologické podmínky na lokalitách (Šrámek-Hušek 1940; Valoušek 1951; Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996). Ke

stejným závěrům došli i další badatelé (Šrámek-Hušek 1940; Rulík & Měkotová 1995; Měkotová et al. 1996), kteří si při svých pozorováních povšimli, že často dochází k situaci, kdy se v jedné ze dvou na první pohled identických tůní žábronožky vyskytují a ve druhé ne. Výskyt druhu *E. grubii* budou zřejmě ovlivňovat drobné rozdíly v charakteru tůně v daném roce, ale bohužel zatím nebyly nikým přesně popsány. Z měření vyplývá, že vliv podmínek prostředí na přítomnost druhu *E. grubii* v tůni má největší význam v okamžiku, kdy dochází k líhnutí. V průběhu času se podmínky prostředí v tůni mění a nemusí být pro *E. grubii* optimální. Vzhledem k tomu, že se jedná o organismus obývající nestálé tůně, a tím pádem velmi variabilní prostředí, je schopný nevyhovující podmínky přežít. Šrámek-Hušek při svých pozorování jarních tůní v Polabí došel ke stejným závěrům. Potvrdil, že teplota má nejdůležitější úlohu v době líhnutí z vajíček. Následně během pozdějšího vývoje není patrný rozdíl v teplotě vody v tůni výskytem *E. grubii* a bez výskytu (Šrámek-Hušek 1940). Proto shodně vypadající tůně nemusí mít v jednom okamžiku, tj. v době odběru, stejnou faunu.

5. 2. Fauna

V sledovaných tůních jsme nacházeli typické zástupce jarních periodických tůní, jak je popisuje literatura (Kapler 1938; Valoušek 1951; Šrámek-Hušek 1940; Šrámek-Hušek 1962). Mezi nejtypičtější organismy, které jsme v tůni nacházeli, patří korýši: *E. grubii*, *Lepidurus apus*, *Daphnia curvirostris*, *Daphnia pulex*, *Asellus aquaticus* a zástupci podtřídy Copepoda.

Šrámek-Hušek ve své práci uvádí, že nejtypičtějšími zástupci jsou *E. grubii*, *Lepidurus apus*, *Diaptomus castor* a *Daphnia pulex* (Šrámek-Hušek 1940). Na základě pozorování moravských tůní Valoušek doplňuje typické zástupce o druhy *Mesostomum craci* (Turbellaria) a *Hemidiaptomus amblyodon* (Crustacea) (Valoušek 1951). Eurosibiřský druh vznášivky *Hemidiaptomus amblyodon* se na našem území vyskytuje vzácně periodických lučních tůních v aluviální oblasti Dyje u Lednice (Omesová 2001). O tomto druhu se nedá hovořit jako o typickém představiteli jarních vod. Už z práce Štěrby, ve které revidoval typické zástupce tůní Moravy a Slovenska z rozsáhlé sbírky vzorků J. Brtka (celkem 1642 lokalit), je patrné, že kvůli svému vzácnému výskytu nelze považovat tuto vznášivku za typického zástupce jarních periodických vod (Štěrba 1988 in Omesová 2001).

Při našich terénních pozorováních jsme v jarních tůních zaznamenali přítomnost ploštěnek, o kterých se zmiňuje Valoušek (1951). Druh *Mesostomum craci* se líhne současně s *E. grubii* za velmi nízkých teplot tajícího ledu. Valoušek uvádí, že tento druh má unikátní životní strategii, díky které dokáže střídat své generace v jarních a v letních tůních (Valoušek 1951). Tento druh dokáže vytvářet dva druhy vajíček. Málo početná bílá vajíčka se ihned vyvíjejí a díky nim dokáže žít v letních tůních. Druhým typem jsou vajíčka, která mají pevnější obal a dokážou přežít období sucha i přemrznutí jarní tůně (Valoušek 1951).

5. 3. Příbuznost sledovaných populací

Vzdálenost mezi populacemi

Pro testování příbuzenských vztahů druhu *E. grubii* byl zvolen gen pro COI, protože mitochondriální geny jsou úspěšně používány pro sledování fylogeografických vztahů korýšů včetně řádu Anostraca (Hanner & Fugato 1997; Schubart et al. 1998; Remigio & Hebert 2000; Remigio et al. 2001 in Daniels et al. 2004; DeWaard et al. 2006; Braband et al. 2002). Na území České republiky jsme sledovali populace druhu *E. grubii* v rámci čtyř odlišných povodí. Populace se podle příbuznosti zařadily do dvou hlavních skupin: Morava-Labe a Odra. Rozdíl mezi skupinou Morava-Labe a skupinou Odra je 5,3 %. Ve skupině Morava-Labe se vyčlenila podskupina populací patřící do povodí Dyje, které se vzájemně liší o 1,7 %. Rozdíl mezi skupinou Odra a podskupinou Dyje je 5,7 %. Podobné rozdíly v sekvencích byly zjištěny v rámci druhu *Tanymastix stagnalis*. Ketmaier testoval pomocí mt DNA příbuzenské vztahy druhu *Tanymastix stagnalis* na území Evropy. Gen pro COI ukázal 3,2 – 4,7 % rozdíl mezi populacemi (Ketmaier et al. 2005). Při testování příbuzenských vztahů osmi druhů z rodu *Branchinella* gen 16S rRNA ukázal rozdíl v rozmezí 5 – 10 %, zatímco pro COI byl rozdíl 5 % až téměř 20% (Remigio et al. 2001). Ve fylogenetické studii amerických velkých lupenonožců patřících do řádu Notostraca byl zaznamenán proti řádu Anostraca větší rozdíl mezi sekvencemi genů mtDNA. Porovnáním 12S se rozdíl v rámci druhu *T. cancriformis* pohybuje v rozmezí 13,5 – 17,5 % (Murgan et al. 2002). Porovnáním 16S fragmentu je v rámci samotného druhu *T. cancriformis* rozdíl 9,2 - 9,7 %. Rozdíl mezi americkými populacemi rodu *Triops* a rodu *Lepidurus* je 13,3 – 12,8 % (Murgan et al. 2002).

Výsledný fylogram druhu *E. grubii* rozdělil jedince z odlišných populací do 9 haplotypů. Jedinci, kteří se zařadili do skupiny Morava-Labe se rozlišují na 4 haplotypy. V podstatě lze říci, že jedinci, kteří se zařadili do první skupiny mají homogenní populace, protože většina má identický haplotyp. Pouze populace (M 16 vcel2.1/1, MD 41 sou14.1/1, M 49 kral6.1/1) tvoří na fylogramu v rámci první skupiny izolovaný haplotyp. Počet odlišných nukleotidů u těchto tří populací je 3/618. Podskupina Dyje je tvořena jedním identickým haplotypem, který je typický pro jedince z povodí Dyje a soutoku Moravy a Dyje a několik populací z dolního toku Moravy. Skupina Odra má 4 odlišné haplotypy. Většina jedinců z populací nacházejících se v povodí Odry je zahrnuta do dvou haplotypů v rámci této skupiny, které se od sebe liší ve 2 nukleotidech z 618. Z toho vyplývá, že odchylky mezi haplotypy jsou malé a z taxonomického hlediska nevýznamné.

Vývoj populací v čase

Pro zjištění vývoje populací v čase jsme navštívili a odebrali devět lokalit opakovaně. Výsledky ukázaly, že haplotypové složení populací se v čase nemění. To bylo prokázáno u jedinců ze 7 odlišných lokalit z povodí Moravy, Labe a Odry. Ve dvou lokalitách došlo u jedinců ke změně haplotypu. Jedinci z populace v povodí Odry (O such4) měli v průběhu let stejný haplotyp, pouze ve vzorku z posledního odběrového roku byli analyzováni dva jedinci (O 90 such4.1/2; O 90 such4.2/2) a právě jeden z nich měl odlišný haplotyp. Jak už bylo výše řečeno, z celkové fylogramu je patrné, že v rámci skupiny Odra jsou ustálené dva haplotypy (2/618). Druhý jedinec z populace O 90 such4 se zařadil do druhého haplotypu, který se odlišuje dvěma nukleotidy z celkových 618 nukleotidů. Jedinci z populace (L libi1) se v průběhu dvou let zařadili do stejné skupiny Morava-Labe, ale do odlišného haplotypu. Rozdíl v nukleotidech je 5 odlišných z celkových 618 nukleotidů. Z výsledků vyplývá, že variabilita populací se v tomto krátkém časovém měřítku (3 roky) téměř nemění. Nízký počet odlišných nukleotidů je nejspíše odrazem vnitropopulační variability a je téměř zanedbatelný.

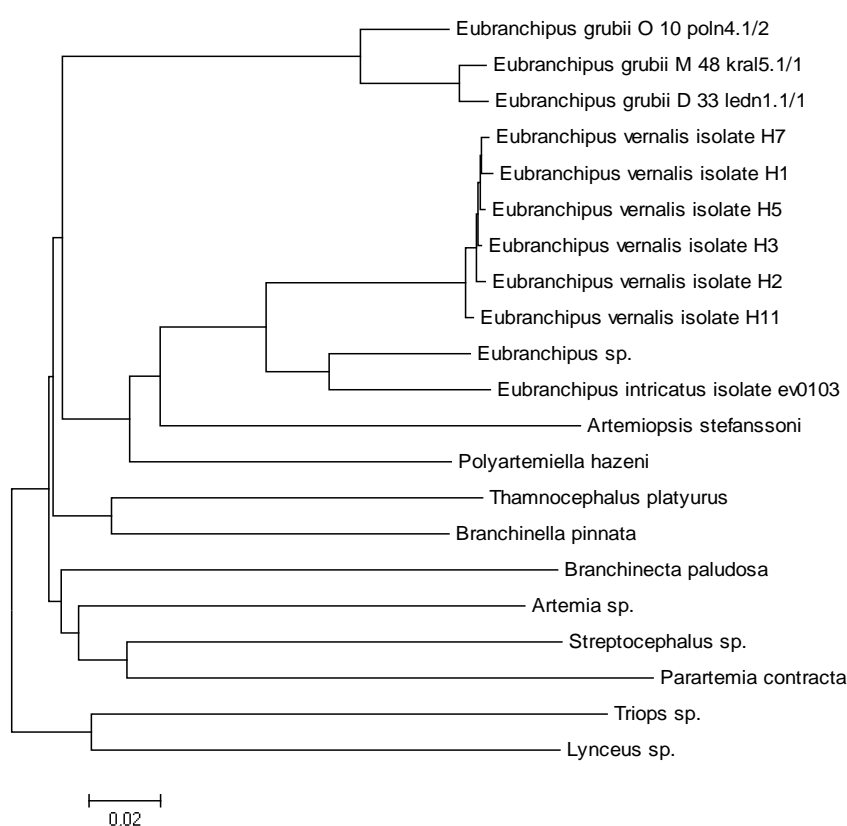
Vnitropopulační variabilita

Pro zjištění vnitropopulační variability jsem analyzovala z některých populací více jedinců. Z 32 populací byli analyzováni dva nebo tři jedinci. Jedinci z 22 populací (69 % populací) se vždy zařadili do stejného haplotypu ve stejné skupině. Jsou to populace z povodí Moravy, Labe a Odry v rámci skupiny Morava-Labe, také populace z povodí Moravy a soutoku, které se zařadily do skupiny Dyje a oderské populace ve skupině Odry. Odlišný haplotyp v rámci stejné skupiny měli jedinci ze 4 populací (12 % populací). Ze sledovaného souboru dat bylo 6 populací (19 % populací), jejichž jedinci se zařadili do odlišné skupiny a odlišného haplotypu.

Vysoká vnitropopulační variabilita byla zjištěna u jedinců ze skupiny LV 32 úpor, kdy ze tří testovaných jedinců se každý zařadil do jiné skupiny. Z populace M 17 vcel3 se jeden jedinec zařadil do skupiny Morava-Labe a druhý do skupiny Odry. Z populace O 09 poln3 se dva jedince zařadili do skupiny Odry a jeden do skupiny Morava-Labe. Podobná variabilita byla prokázána i u populací D 25 bruks, L 30 zabo2, D 39 kano4. Z Polanské nivy, která leží v povodí Odry, jsme dohromady odebrali 7 populací žábřonůžek. Z toho jedinci ze 2 populací (O 60 poln8; O 62 poln5 = O 11 poln5) se po opakované analýze zařadily do skupiny Labe-Morava. Přestože všichni jedinci z ostatních populací z povodí Odry se zařadili do skupiny Odry. Všechny populace z oblasti Suchdol nad Odrou patří do této skupiny a také tři populace z Polanské nivy. Do oderské skupiny se jako jediní zařadili jedinci z populace z Polabí (L 69 ceper) a to přímo do dvou odlišných haplotypů. Ketmaier udává, že literatura, která pojednává o mezidruhové a vnitrodruhové genetické diverzitě žábřonůžek je relativně skromná (Riddoch et al. 1994; Davies et al. 1997; Bohonak, 1998; Remigio & Hebert 2000; Remigio et al. 2001; Zarattini et al. 2001; Hebert et al. 2002; Ketmaier et al. 2003 in Ketmaier et al. 2005) a většina z nich je založena na analýze alozymů (Ketmaier et al. 2005). Na rozdíl od našich výsledků, bylo na základě alozymové analýzy zjištěna vysoká variabilita mezi populacemi endemického druhu *Branchinecta sandiegonensis* (Davies et al. 1997). Velká rozdílnost mezi lokálními populacemi poukazuje na nízký genetický tok (Behonak & Jenkins 2003). Výsledky studie potvrzují nízký genetický tok mezi populacemi druhu *B. sandiegonensis* navzdory tomu, že se vyskytuje na poměrně malém území, které je ale značně fragmentované (Davies et al. 1997).

Vzdálenost populací z taxonomického hlediska

Pro posouzení významu rozdílu 5,3 a 5,7 % mezi jednotlivými povodími jsem vyhledala v databázi NCBI jiné sekvence zástupců řádu Anostraca, abych je porovnála se získanými sekvencemi druhu *E. grubii*. Do fylogramu (obr.16) jsem použila sekvence žábronožek, které zastupují 7 čeledí z celkově osmi známých čeledí řádu Anostraca (Remingo & Hebert 2000; Brendonck et al. 2008). Sekvence pro čeleď Linderiellidae nebyla k dispozici (Remingo & Hebert 2000). Zároveň bylo možné srovnat i několik druhů z rodu *Eubbranchipus*.



Obr.16: Fylogram z sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ. Fylogram zobrazuje variabilitu zástupců řádu Anostraca.

Z porovnání je patrné, že genetická vzdálenost mezi různými druhy rodu *Eubbranchipus* se pohybuje od 8,4 do 21,8 % (tab. 6). Rozdíl 5,3 a 5,7 % v rámci druhu *E. grubii* je poměrně značný, ale zřejmě poukazuje spíše na dávné oddělení populací jednoho druhu, než na výskyt dvou různých druhů na daném území. To lze usuzovat na základě přepisu sekvencí DNA do sekvencí aminokyselin, protože v přepisu byl nulový rozdíl.

Tab. 6: P-distance; párové rozdíly v sekvencích části genu pro COI mezi zástupci rodu *Eubbranchipus*. K výpočtu použit Kimura dvouparametrový model.

	<i>Eubbranchipus</i> sp.	<i>E. grubii</i>	<i>E. vernalis</i>
<i>Eubbranchipus</i> sp.			
<i>E. grubii</i>	20,8%		
<i>E. vernalis</i>	12,8%	21,8%	
<i>E. intricatus</i>	8,4%	21,2%	11,4%

5. 4. Disperze a vývoj osídlení současných habitatů

Genetická data umožňují poznání disperze vodních bezobratlých (Behonak & Jenkins 2003). Díky nim můžeme rozlišit zda se jejich disperze uplatňuje na krátké či dlouhé vzdálenosti, lze určit zdrojové populace nově příchozích kolonistů v různě dlouhém časovém měřítku (Havel & Shurin 2004). Jako příklad lze uvést dobře migrující druh *Daphnia lumholtzi*. Stanovení variability na základě alozymových lokusů a srovnáním sekvencí mitochondriálních genů se zjistilo, že *Daphnia lumholtzi*, která obývá lokality v Severní Americe je odvozená od afrických nebo asijských druhů. Což potvrdilo hypotézu, že *D. lumholtzi* kolonizovala Ameriku díky schopnosti trvalých vajíček přežít v žaludku afrických ryb (Havel & Shurin 2004). Jiná studie posuzovala historickou a současnou distribuci letních žábronožek z čeledi Streptocephalidae. Vztahy mezi druhy rodu *Streptocephalus* byly zkoušeny pomocí 2 mitochondriálních genů. Fylogenetické výsledky ukázaly, že rod *Streptocephalus* se rozvinul na Godwaně a současná distribuce je výsledkem vicariance a omezené distribuce (Daniels et al. 2004).

Typičtí obyvatelé jarních periodických tůní jsou plně adaptováni k životu v tomto specifickém biotopu. Jejich životní strategie má charakteristické rysy, mezi které patří rychlý vývoj jedinců do dospělosti (Šrámek-Hušek 1940), přítomnost stádia (trvalá vajíčka, larvy, dospělci), které dokáže přežít období sucha (Gyllström et al. 2004) a schopnost pasivní disperze (Bilton et al. 2001; Havel & Shurin 2004). Nejdokonalejším stádiem jsou trvalá vajíčka, která jsou velmi odolná a zůstávají dlouho životaschopná (Ripley et al. 2004). Další významnou výhodou cyst je, že tvoří egg bank

(Hairston et al. 1995; Hairston 1996; Brendonck & De Meester 2003; Gyllström et al. 2004). Žábronožky mohou prostřednictvím různých vektorů rozšiřovat své cysty z jednoho vhodného prostředí do jiného (Davies et al. 1997). Úspěšná disperze vede ke genetickému toku, přenosu genů z jedné populace do druhé a přispívá ke homogenitě genů mezi populacemi (Behonak & Jenkins 2003). Z našich výsledků vyplývá, že populace v rámci povodí jsou téměř homogenní. Rozdělení však není přesně podle povodí, ale spíše podle geografických poměrů v krajině. K šíření na dlouhé vzdálenosti nedochází, populace si zachovaly svoje historické rozdělení. K toku genů na krátké vzdálenosti zřejmě probíhá pouze na lokální úrovni hlavně díky povodňové vlně. Ke stejným závěrům dospěli Měkotová et al., kteří v CHKO Litovelské Pomoraví sledovali výskyt druhu *E. grubii* (Měkotová et al. 1996). Zároveň Měkotová udává, že je možný transfer druhu *E. grubii* z jedné tůně do druhé a že nově vytvořená populace prosperuje (Měkotová nepublikováno in Měkotová et al. 1996). Tato nepublikovaná informace potvrzuje přenos druhu *E. grubii* lidským vektorem.

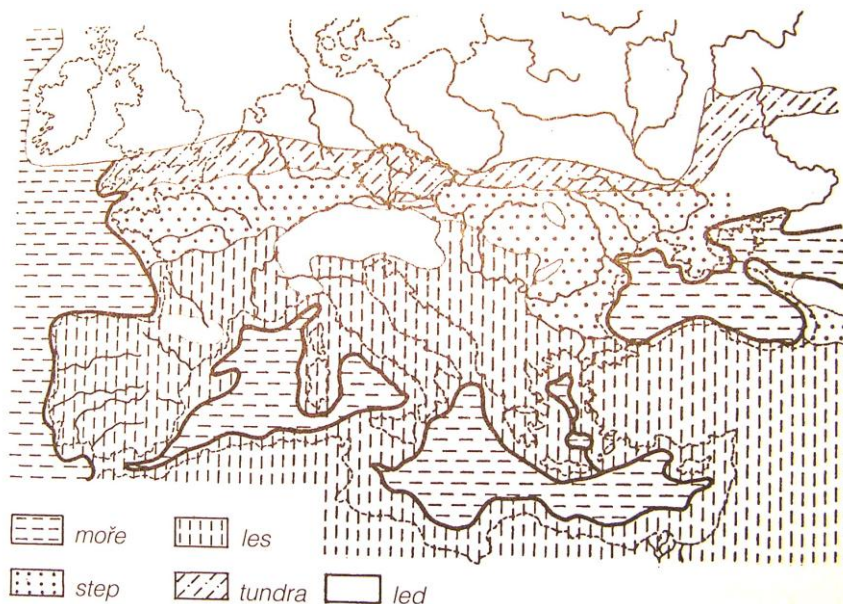
Významný vliv na genetickou strukturu populace má egg bank. Vajíčka zůstávají dlouho životaschopná a díky jim je populace v tůni chráněna před vyhynutím v důsledku proměnlivého prostředí. Zároveň egg banka může vysvětlit odlišnost populací mezi blízce sousedícími tůněmi (Brendonck 1996).

Příbuznost populací *E. grubii* na našem území ukazuje spíše na historické osídlování krajiny. Genetická vzdálenost mezi skupinami populací je přitom poměrně velká. Rozdíl 5,3 % poukazuje na odlišný původ populací, zřejmě z různých refugií.

Tradičně se předpokládá, že temperátní druhy přežily během posledního glaciálu v refugiích, protože pro ně byla velká část Evropy neobyvatelná. Refugia byla v jižních částech Evropy na Iberském, Apeninském a Balkánském poloostrově (Hewitt 1999; Ložek 1999; Taberlet et al. 1998; Seddon et al. 2002). Variabilita DNA malých savců (např. norníka rudého *Clethrionomys glareolus*) ukázala, některé druhy přežily ve střední Evropě během posledního glaciálu (Kotlík et al. 2006). A právě tyto populace z těchto "severních" refugií, spíše kolonizovaly většinu Evropy a západní Sibiře než druhy ze Středomoří. Paleontologické údaje naznačují, že jedno takové refugium mohlo být v oblasti Karpat (Kotlík et al. 2006). Ložek potvrzuje, že z hlediska refugií má klíčové postavení Slovenský kras, území, které je v sousedství našeho současného území. Geografická poloha Slovenského krasu je významná, protože se zde střetávají panonské xerotermy a horské karpatské prvky (Ložek 2007). Je možné, že na tomto

území mohli přežít některé druhy a odtud následně kolonizovat Evropu. Důkazem jsou paleontologické nálezy, které potvrzují, že na tomto území přežívaly mimořádně dlouho někteří glaciální savci (*Microtus gregalis*, *Sicista subtilis*, *Ochotna* sp.) (Ložek 2007).

Jak už bylo řečeno, tradiční refugia pro terestrické organizmy se nacházela na poloostrovech zasahujících do Středozemního moře. Pro vodní organizmy to platí jen částečně, protože jejich schopnost disperze je limitovaná geografickým rozložením vodních systémů (Verovnik et. al. 2005). Před pleistocénní změny povodí a izolace vodních sítí ovlivnily současnou distribuci sladkovodních živočichů pravděpodobně více než změny klimatu (Verovnik et. al. 2005). Molekulárních studie sladkovodních ryb poukazují na izolaci mezi rozdílnými středomořskými regiony od jejich nestředozemních příbuzných. Ovšem izolace nikdy nebyla úplná a někdy dokonce docházelo ke kontaktu napříč povodími. Tyto kontakty usnadňovalo periglaciální propojení během ústupu ledovců (Verovnik et. al. 2005). Periglaciální oblast se nacházela ve střední Evropě a naše území bylo její součástí (obr. 17). Tato oblast nebyla pokryta ledem, ale byla pod přímým vlivem zalednění (Ložek 1973).



Obr. 17: V glaciálech bylo naše území součástí periglaciálního koridoru (převzato z Ložek 2007).

Středoevropská periglaciální oblast navazovala na východě na nezaledněnou část ruské tabule. Na rozdíl od středoevropské oblasti byla ruská periglaciální zóna rozsáhlou

plošinu s údolími, která směřovaly do Černého a Kaspického moře (Ložek 1973). Právě černomořská oblast mohla sloužit jako významné glaciální refugium a zdroj postglaciální kolonizace Evropy sladkovodními organismy. Na konci pleistocenu bylo Černé moře obrovské sladkovodní jezero, které se začátkem holocénu změnilo v moře (Degens & Ross 1972; Ryan et al. 1997 in Kotlík 2004). Fylogeografická studie, která hodnotila variabilitu mt DNA odhalila existenci čtyř refugiálních genetických linií kaprovitých ryb komplexu *Barbus barbus* a *B. tauricus* (Kotlík 2004).

Z fylogeografického hlediska byly studovány dva druhy žábronožek *Artemiopsis stefanssoni* a *Branchinecta paludosa*, které společně obývají arktické oblasti Severní Ameriky. Porovnáním dvou mitochondriálních genů (16S rDNA a COI) ukázalo, že *A. stefanssoni* osídlila oblast svého recentního výskytu z jednoho refugia ve Winsconcinu. Na rozdíl od druhu *B. paludosa*, která se rozšířila z různých arktických a horských refugií v Severní Americe, tak i z horských refugií Evropy (Cox 2001). Z našich výsledků vyplývá, že celkový výskyt haplotypů v krajině spíše odráží historické rozmístění druhu *E. grubii*. Pravděpodobně jedinci, kteří nyní obývají lokality v povodí Odry, přišly z východně položených refugií. Populace z povodí Moravy, Labe a Dyje byly zřejmě osídleny jedinci z jižněji položených refugií.

Vývoj naší krajiny během glaciálu byl formován přítomností našeho území v periglaciálním koridoru a přítomností dvou typů ledovců (Ložek 2007; Růžička 2004), i když přímo zasáhly jen dvě oblasti a to během elsterského (halštrovského) a salského glaciálu glaciálu. Působení salského zalednění bylo méně intenzivní než průběh elsterského zalednění (Růžička 2004). Nejmladší, viselský ledovec na naše území nezasáhl (Růžička 2004, [1]). Řeky se během glaciálu rozlévaly do četných a mělkých a stále se měnících ramenech po celé nivě. Pravděpodobně většinu roku převládal nízký vodní stav a menší toky často vysychaly, podobně jako v dnešních subaridních oblastech. Tyto měnící se řeky protékaly nezalesněnou krajinou (Ložek 1973). V nejchladnějších obdobích u nás převládala vegetace tundry doplňovaná kamenitou tundrou na hřebenech hor a studenou stepí v nížinách. Koncem glaciálu došlo k mírnému oteplení a nastalo krátké klimatické období, které je označováno jako pozdní glaciál (15 – 12 tisíc let BP). V průběhu pozdního glaciálu se výrazně mění dynamika vodních toků na našem území. Řeky, které měly charakter prudkých toků, se systémem stále se měnících ramen a šterkových lavic v celém rozsahu niv, se stahují do stálých koryt. Díky tomu se v nivách vytvářejí volné meandry a stará ramena jsou

zaplavovaná jen při povodni (Ložek 2007). Dochází k nárůstu diverzity, ať už díky organismům, které přežily doby ledové nebo díky organismům, které se začaly objevovat na našem území. Zvyšuje se počet druhů tvořící různá společenstva, od stepních až k mokřadním a vodním a začíná pomalý vznik lesních společenstev (Ložek 2007). V průběhu holocénu se mění vegetace, dochází k rozvoji lesních společenstev a následně vlivem příchodu člověka se mění ráz krajiny.

Žábronožky druhu *E. grubii* pravděpodobně přišly na naše území z odlišných refugií. V důsledku změn ve vývoji krajiny byly žábronožky zatlačeny do niv řek, kde osídlují dočasné tůňe, protože v nich nacházejí nejvhodnější podmínky. Toto osídlení odpovídá recentnímu rozšíření.

6. ZÁVĚR

Druh *E. grubii* je typickým představitelem fauny jarních periodických tůní. Na území České republiky se tento specifický biotop nachází v nivách řek. Celkem bylo odebráno a analyzováno 95 populací druhu *E. grubii* z povodí řek Labe, Moravy, Odry a Dyje. Srovnáním fyzikálních a chemických faktorů (pH, množství rozpuštěného kyslíku, teplota, vodivost, množství chlorofylu *a*) se neprokázal žádný rozdíl mezi sledovanými parametry na lokalitách s přítomností *E. grubii* a lokalitách, kde se *E. grubii* nevyskytovala.

Analýza genu COI rozdělila sledované populace do skupin Morava-Labe, Dyje a Odry. Genetická vzdálenost mezi skupinami populací je přitom poměrně velká. Skupina Morava-Labe je oddělena od skupiny Odry přibližně 5,3 % rozdílem mezi sekvencemi DNA, skupina Dyje je od skupiny Morava-Labe oddělena rozdílem přibližně 1,7 %. Zároveň je uvnitř skupin nízká variabilita.

Příbuznost populací *E. grubii* na našem území ukazuje spíše na historické osídlování krajiny. Rozdíl 1,7 – 5,7 % poukazuje na odlišný původ populací, zřejmě z různých refugií v průběhu zalednění. Pro detailnější informace o příbuznosti populací bude nutné analyzovat i další genetické parametry.

7. LITERATURA

- Begon, M., Harper, J. L., Townsend, C. R., 1997.** Ekologie – jedinci, populace a společenstva. Olomouc. 949 s.
- Belk, D., Nelson, T. S., 1995.** Observations on the effects of incubation at inhibitory temperature on subsequent hatching of anostraca cysts. *Hydrobiologia*, 298: 179-181.
- Bernatchez, L., Wilson, C., 1998:** Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. *Molecular Ecology*, 7: 431-452.
- Bilton, D. T., Freeland, J. R., Okamura, B., 2001.** Dispersal in freshwater invertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32: 159-181.
- Boileau, M. G., Hebert, P. D. N., Schwarz, S.S., 1992.** Non-equilibrium gene frequency divergence: persistent founder effects in natural populations. *J. Evol. Biol.* 5: 25-39.
- Bohonak, A. J., 1998.** Genetic population structure of the fairy shrimp *Branchinecta coloradensis* (Anostraca) in the Rocky Mountains of Colorado. *Can. J. Zool.* 76: 2049–2057.
- Bohonak, A. J., Jenkins, D. G., 2003.** Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters*, 6: 783-796.
- Bonner, L. A., Diehl, W. J. & Altig, R., 1997.** Physical, chemical and biological dynamics of five temporary dystrophic forest pools in Central Mississippi. *Hydrobiologia* 353, 77-89.
- Bonis, A., Lepat, J., Grillas, P., 1995.** Seed bank dynamics and coexistence of annual macrophytes in a temporary and variable habitat. *Oikos*, 74: 81-92.
- Box, D., Sala, J., Gascón, S., Brucet, S., 2006.** Predation in a temporary pond with special attention to the trophic role of *Triops canciformis* (Crustacea: Branchiopoda: Notostraca). *Hydrobiologia*, 571: 341-353.
- Braband, A., Richter, S., Hiesel, R., Scholtz, G., 2002.** Phylogenetic relationships within the Phyllopoda (Crustacea, Branchiopoda) based on mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25: 229–244.
- Brendonck, L., 1996.** Diapause, quiescence, hatching requirements: what we can learn from large freshwater brnachiopods (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca, Notostraca, Conchostraca). *Hydrobiologia*, 320: 85-97.
- Brendonck L., Riddoch B. J., Van de Weghe, V., Van Dooren, T., 1998.** The maintenance of egg banks in very short-lived pools – a case study with anostracans (Branchiopoda). *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol.*, 52: 141-161.

- Brendonck, L., Riddoch, B. J. 1999.** Wind-borne short-range egg dispersal in anostracans (Crustacea : Branchiopoda). *Biol. J. Linn. Soc.* 67: 87-95.
- Brendonck, L., Riddoch B. J., 2000.** Egg bank dynamics in anostracan desert rock pool populations (Crustacea: Branchiopoda). *Arch. Hydrobiol.*, 148: 71-84.
- Brendonck, L., De Meester, L., Riddoch B. J., 2000.** Regional structuring of genetic variation in short-lived rock pool populations of *Branchipodopsis wolffi* (Crustacea: Anostraca). *Oecologia*. 123: 506-515.
- Brendonck, L., De Meester, L., 2003.** Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia*, 491: 65-84.
- Brendonck, L., Rogers, D., Olesen, J., Weeks, S., Hoeh, W. 2008.** Global diversity of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 167-176.
- Brtek, J., Mura G. 2000.** Revised key to families and genera of the Anostraca with notes on their geographical distribution. *Crustaceana*, 73 (9): 1037-1088.
- Caceres, C. E., Soluk, D.A., 2002.** Blowing in the wind: a field test of overland dispersal and colonization by aquatic invertebrates. *Oecologia* 131: 402-408.
- Cox, A. J., Hebert, P. D. N., 2001.** Colonization, extinction, and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Molecular Ecology*, 10: 371–386.
- Cox, A. J., 2001.** Freshwater phylogeography: the impact of life history traits on the post-glacial dispersal of zooplankton in North America. University of Guephl. Dept. Of Zoology. 134str.
- Czudek, T. 2005.** Vývoj reliéfu krajiny České republiky v kvartéru. Moravské zemské muzeum. Brno.
- Daniels, S. R., Hamer, M., Rogers, Ch., 2004.** Molecular evidence suggests an ancient radiation for the fairy shrimp genus *Streptocephalus* (Branchiopoda: Anostraca). *Biological Journal of the Linnean Society*, 82: 313–327.
- Davies, C. P., Simovich, M. A., Hathaway, S. A. 1997.** Population genetic structure of a California endemic branchiopod, *Branchinecta sandiegonensis*. *Hydrobiologia* 359: 149–158.
- Degens, E. T., Ross, D. A., 1972.** Chronology of the Black Sea over the last 25,000 years. *Chemical Geology*, 10, 1–16. *
- DeWaard, J., Sacherová, V., Cristescu, M., Remigio, E., Urease, T., Hebert, P.D.N., 2006.** Probing the relationships of the branchiopod crustaceans. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39: 491–502.

- Farkač, J., Král, D., Škorpík, M., 2005.** Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. Praha. 760 s.
- Figuerola, J., Green, A. J., 2002.** Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies. *Freshwater Biol.* 47: 483-494.
- Flégr, J., 2005.** Evoluční biologie. Academia, Praha. 559 s.
- Folmer, O., Blaf, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994.** DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Fryer, G., 1996.** Diapause, a potent force in the evolution of freshwater crustaceans. *Hydrobiologia*, 320: 1-14.
- De Meester, L., De Gelas, K., 2005.** Phylogeography of *Daphnia magna* in Europe. *Molecular Ecology*, 14: 753–764.
- Green, A. J., Sánchez, M. I., Amat, F., Figuerola, J. et al. 2005.** Dispersal of invasive and native brine shrimps *Artemia* (Anostraca) via waterbirds. *Limnology and Oceanography*, 50 (2): 737-742.
- Green, A. J., Figuerola, J., 2005.** Recent advances in the study of long-distance dispersal of aquatic invertebrates via birds. *Diversity and Distributions* 11: 149-156.
- Gyllström, M., Hansson, L. A., 2004.** Dormancy in freshwater zooplankton: Induction, termination and the importance of benthic-pelagic coupling. *Aquatic Sciences* 66 (3): 274-295.
- Hairston, N. G. Jr., Van Bunt, R. A., Kearns, C. M., Engstrom, D. R., 1995.** Age and survivorship of diapausing eggs in a sediment egg bank. *Ecology* 76: 1706-1711.
- Hairston, N. G. Jr., 1996.** Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnol. Oceanogr.*, 41 (5): 1087-1092.
- Hanner, R., Fugato, M., 1997.** Branchiopod phylogenetic reconstruction from 12S rDNA sequences. *Journal of Crustacean Biology*, 17: 174–183. *
- Havel, J. E., Shurin, J. B., 2004.** Mechanisms, effects, and scales of dispersal in freshwater zooplankton. *Limnology and Oceanography* 49: 1229-1238.
- Hebert, P. D. N., Beaton, M. J., 1989.** Methodologies for allozyme analysis using cellulose acetate electrophoresis. Helena Laboratories, Beaumont, Texas.

- Hebert, P. D. N., Remigio, E. A., Colbourne, J. K., Taylor, D. J., Wilson, CH. C., 2002.** Accelerated Molecular Evolution in Halophilic Crustaceans. *Evolution*, 56(5): 909–926. *
- Heteša, J., 2003.** Biodiverzita tůní Horního lesa: fytoplankton a fyto bentos. Sborník Hydroekologie mokřadu Kančí obora. 45-61.
- Hewitt, G. M., 1999.** Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68: 87-112.
- Hill, R., Rogers, D., Queltvog, B., Galleger, P., 1997.** New records and observations on the anostracan genus *Eubbranchipus* in Kalifornia. *Hydrobiologia* 359: 75-81.
- Hrabě, S., 1937.** Příspěvek k zeměpisnému rozšíření žábronožek a škeblovek v Československé republice. *Entomologické listy* I. 33-39.
- Hulsmans, A., Bracke, S., Moreau, K., Riddoch, B. J., De Meester, L., Brendonck, L., 2006.** Dormant egg bank characteristics and hatching pattern of the *Phallocryptus spinosa* (Anostraca) population in the Makgadikgadi Pans (Botswana). *Hydrobiologia*, 571: 123-132.
- Charalambidou, I., Santamaria, L., 2005.** Field evidence for the potential of waterbirds as dispersers of aquatic organisms. *Wetlands*, 25: 252-258.
- Chlupáč, I., 2002.** Geologická minulost České republiky. Praha:Academia. 436 str.
- Kapler, O., 1938.** K nové situaci na jižní Moravě. *Příroda* 31(9)
- Kapler, O., 1939.** Ze života vyšších lupenonožců (Euphylllopoda). *Příroda*. 32, 2: 1-7.
- Kapler, O., 1943.** Ze života lupenonožců známých z území Moravy. *Příroda* 35, 6:167-178.
- Kavka, T., 2000.** Listonozi, žábronožky a škeblovou v přírodě a chovu. *Živa* 5: 224-227.
- Ketmaier, V., Zarattini, P., De Matthaieis, E., Cobolli, M., Mura, G., 2003.** Intra- and inter-specific relationships in the six Italian species of the fairy shrimp genus *Chirocephalus*: combining allozyme and mtDNA data. *J. Zool. Syst. Evol. Research* 41: 276–285.
- Ketmaier, V., Mandatori, R., De Matthaieis, E., Mura, G., 2005.** Molecular systematics and phylogeography in the fairy shrimp *Tanymastix stagnalis* based on mitochondrial DNA. *J. Zool., Lond.* 266: 401–410.
- Kloupar, M., 2003.** Revitalizace hydrologického systému lužního lesa „Kančí obora“. Sborník Hydroekologie mokřadu Kančí obora. 17-24.
- Kotlík, P., Berrebi, P., 2001:** Phylogeography of the barbel (*Barbus bambus*) assessed by mitochondrial DNA variation. *Molecular Ekology*, 10: 2177–2185.

- Kotlík, P., Bogutskaya, N.G., Ekmekci, F. G., 2004.** Circum Black Sea phylogeography of Barbus freshwater fishes: divergence in the Pontic glacial refugium. *Molecular Ecology*, 13: 87–95.
- Kotlík, P., Deffontaine, V., Mascheretti, S., Zima, J., Michaux, J.R., Searle, J.B., 2006.** A northern glacial refugium for bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *PNAS*, 103 (40): 14860-14864.
- Kraus, H., Eder, E., Möller, O., Werding, B., 2004.** Cyst deposition behaviour and the functional morphology of the brood pouch in *Streptocephalus torvicornis* (Branchiopoda: Anostraca). *Journal of Crustacean Biology*, 24 (3): 393-397
- Kumar, S., Tamura, K., Nei, M., 2004.** MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Ložek, V., 1973.** Příroda ve čtvrtohorách. Academia Praha. 372 s.
- Ložek, V., 1999.** Vývoj současných ekosystémů. *Ochrana přírody* 54, 2: 35-40.
- Ložek, V., 2001.** Přirozené změny podnebí. Život se přizpůsoboval i drastickým výkyvům teploty. *Vesmír*, 80: 146-152.
- Ložek, V., 2007.** Zrcadlo minulosti. Česká a slovenská krajina v kvartéru. Dokořán. Praha. 198s.
- Machar, I., 1998.** Ochrana lužních lesů a olšin. Ochrana biologické rozmanitosti. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. Praha. 31 s.
- Merta L., 2003a.** Distribuce vajíček žábronožky sněžní (Crustacea, Anostraca) v jarní periodické tůni- ekologické souvislosti. pp 42. In: Bryja, J. & Zúkal, J. (Eds.) *Zoologické dny Brno 2003. Sborník abstraktů z konference. ÚBO AV ČR Brno.*
- Merta L., 2003b.** Prehatching success of *Eubbranchipus (Siphonophanes) grubii* (Crustacea, Anostreca) under the influence of some environmental factors. *Biologia. Bratislava*, 58/5: 919-924.
- Merta, L. 2003c.** Role vysychání jarní periodické tůně v procesu líhnutí vajíček žábronožky sněžní (*Eubbranchipus grubii*). *Acta Facultatis Ecologiae*, 10: 115-118.
- Měkotová, J., Rulík, M., Kršková, M., 1996.** Příspěvek k poznání rozšíření a ekologických nároků žábronožky sněžní (*Siphonophanes grubii* Dybowski, 1860) a listonožky jarního (*Lepidurus apus* L., 1758) v CHKO Litovelské Pomoraví. Sborník ze semináře Ochrana biodiverzity drobných stojatých vod. ZO ČSOB Vlašim. 45-57.
- Mocek, B., Mikátová, B. 2005.** Žábronožky (Anostraca) a listonožky (Notostraca) (Crustacea: Phyllopoda) východního polabí. Vč. Sb. Přír. – práce a studie, 12: 143-152.

- Møller, O. S., Olesen, J., Hoeg, J. T., 2004.** On the larval development of *Eubbranchipus grubii* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca), with notes on the basal phylogeny of the Branchiopoda. *Zoomorphology*, 123: 107-123.
- Mossin, J., 1986.** Physiochemical factors inducing embryonic development and spring hatching of european fairy shrimps *Siphonophanes grubii* (Dybowski) (Crustacea: Anostraca). *J. crust. Biol.* 6: 693-704. *
- Mura, G., Zarattini, P. 1999.** Influence of parental rearing conditions on cyst production and hatching of *Chirocephalus ruffoi*, an endemic fairy shrimp from Italy (Anostraca).
- Mura, G., 2004.** Structure and functioning of the egg bank of a fairy shrimp in a temporary pool: *Chirocephalus ruffoi* from Pollino National Park (Southern Italy) as a case study. *Internat. Rev. Hydrobiol.*, 89: 35-50.
- Murugan, G., Maeda-Martínez, A. M., Obregón-Barboza, H., Hernández-Saavedra, N. Y., 2002.** Molecular characterization of the tadpole shrimp Triops (Branchiopoda: Notostraca) from the Baja California Peninsula, México: New insights on species diversity and phylogeny of the genus. *Hydrobiologia*, 486: 101-113.
- Nesbø, C. L., Fossheim, T., Vøllestad, A., Jakobsen, K. S. 1999.** Genetic divergence and phylogeographic relationships among European perch (*Perca fluviatilis*) populations reflect glacial refugia and postglacial colonization. *Molecular Ecology* 8: 1387-1404.
- Omesová, M., 2001.** Vzácná vznášivka *Hemidiaptomus amblyodon* v jarních periodických tůňích jižní Moravy. *Ochrana přírody*, 56, 3: 80-81.
- Petránek, J. 1993.** *Encyklopedie geologie*. České Budějovice, Nakladatelství JIH, 246 str.
- Philippi, T., Simovich, M., Bauder, E., Moorad, J., 2001.** Habitat ephemerality and hatching fractions of a diapausing Anostraca (Crustacea: Branchiopoda). *Israel Journal of Zoology*, 47: 387-395.
- Remigio, E. A., Hebert, P. D., 2000.** Affinities among anostracan (Crustacea: Branchiopoda) families inferred from phylogenetic analyses of multiple gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 17, (1): 117-128.
- Remigio, E. A., Hebert, P. D., Savage, A., 2001.** Phylogenetic relationships and remarkable radiation in *Parartemia* (Crustacea: Anostraca), the endemic brine shrimp of Australia: evidence from mitochondrial DNA sequences. *Biological Journal of the Linnean Society*, 74: 59-71.
- Remigio, E. A., Timms, B. V., Hebert, P. D., 2003.** Phylogenetic systematics of the Australian fairy shrimp genus *Branchinella* based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Crustacean Biology*, 23 (2): 436-442.

- Riddoch, B. J., Mpoloka, S. W., Cantrell, M., 1994.** Genetic variation and localized gene flow in the fairy shrimp, *Branchipodopsis wolffi*, in temporary rainwater pools in southeastern Botswana. In Genetics and evolution of aquatic organisms: 96–102. Beaumont, A. R. (Ed.). New York: Chapman & Hall. *
- Richter, S., Olesen, J., Wheeler, W. C., 2007.** Phylogeny of Branchiopoda (Crustacea) based on a combined analysis of morphological data and six molecular loci. Cladistics, 23: 1–36.
- Ripley, B. J., Holtz, J., Simovich, M. A., 2004:** Cyst bank life-history model for a fairy shrimp from ephemeral ponds. Freshwater Biology, 49: 221–231.
- Rulík, M., Měkotová, J., 1995.** Program sledování jarních periodických tůní v CHKO Litovelské Pomoraví. Ochrana přírody. 50. 3. 67-70.
- Růžička, M. 2004.** The Pleistocene glaciation of Czechia. Quaternary Claciations-Extent and Chronology. 27-34.
- Růžičková, E., Růžička, M., Zeman, A., Kadlec, J. 2001.** Quaternary clastic sediments of the Czech Republic. Praha, Český Geologický Ústav. 160s.
- Ryan, W., Potkan, W., Major, C. O., 1997.** An abrupt drowning of the Black Sea shelf. Marine Geology, 138: 119–126. *
- Simovich, M. A., Hathaway, S. A. 1997.** Diversified bet-hedging as a reproductive strategy of some ephemeral pool anostracans (Branchiopoda). Journal crust. Biol. 17: 38-44.
- Seddon, J. M., Santucci, F., Reeve, N. J., Hewitt, G.M. 2001.** DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. Molecular Ecology 10: 2187-2198.
- Seddon, J. M., Santucci, F., Reeve, N. J., Hewitt, G.M. 2002.** Caucasus Mountains divide postulated postglacial colonization route in the white-breasted hedgehog, *Erinaceus concolor*. J. Evol. Biol., 15: 463-467.
- Schubert, C.D., Diesel, R., Hedges, S.B. 1998.** Rapid evolution to terrestrial life in Jamaican crabs. Nature, 393: 363–365. *
- Schwenk K., Sand A., Boersma M., Brehm, M., Mader, E., Offerhaus D., Spaak P. 1998.** Genetic markers, genealogies and biogeographic patterns in cladocera. Aquatic Ecology 32: 37-51.
- Šrámek-Hušek, R., 1940.** K rozšíření a biologii žábronožky *Chirocephalopsis grubei* a listonoha *Lepidurus apus* ve východním Polabí. Věda přírodní, 20 (3): 85-89.
- Šrámek-Hušek, R., Straškraba, M., Brtek, J. 1962.** Fauna ČSSR, svazek 16, Lupenonožci – Branchiopoda. Nakladatelství ČSAV, Praha. 470 s.

- Štěrba, O., 1988.** K problému hydrocenóz. In: Využití poznatků limnologické vědy v praxi. 8. celost. Limnol. Konf. 3. – 8. 10. 1988, Čsl. limnol. spol. ČSAV, České Budějovice. 189-192. *
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A., Cosson, J. 1998.** Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7: 453-464.
- Thiéry, A., 1997.** Horizontal distribution and abundance of cysts of several large branchiopods in temporary pool and ditch sediments. *Hydrobiologia*, 359: 177-189.
- Vainio, J. K., Vainola, R., 2003.** Refugia races and postglacial colonization history of the freshwater amphipod *Gammarus lacustris* in Northern Europe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79: 523-542.
- Valoušek, B., 1926.** Kopulace žábronožky sněžní *Chirocephalus grubii* Dyb. Spisy vydané Přírodovědeckou fakultou Masarykovy univerzity, č. 75: 1–5.
- Valoušek, B., 1951.** Periodická sněžní tůň jako biotop. práce Moravskoslezské Akademie věd přírodních. 23, 20: 411-436.
- Valoušek, B., 1952.** Pokusy s Euphyllopody. Práce Moravskoslezské Akademie věd přírodních. sv. 24, spis 10: 207-230.
- Verovnik, R., Sket, B., Trontelj, P., 2004:** Phylogeography of subterranean and surface populations of water lice *Asellus aquaticus* (Crustacea: Isopoda). *Molecular Ecology* 13: 1519–1532.
- Weekers, P. H., Murugan, G., Vanfleteren, J. R., Belk, D., Dumont, H. J., 2002.** Phylogenetic analysis of anostracans (Branchiopoda: Anostraca) inferred from nuclear 18S ribosomal DNA (18S rDNA) sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 25: 535–544.
- Zarattini, P., Ketmaier, V., De Matthaeis, E., Mura, G., 2001.** Phenotypic and genotypic variation in the two known populations of *Chirocephalus ruffoi* Cottarelli & Mura, 1984 (Crustacea, Anostraca), endemic to Italy. *Crustaceana* 74: 377–388. *
- Zarattini, P., 2004.** Intraspecific differences in hatching phenology of the fairy shrimp *Chirocephalus diaphanus* Prévost, 1803 (Crustacea, Anostraca) in relation to habitat duration. *J. Limnol.*, 63: 85-89.

(* nepřímá citace; zdroj citace je uváděn průběžně v textu)

Elektronické zdroje:

- [1] Geografie české republiky [online]. 2007 [cit. 2008-03-10]. Dostupný z WWW:<http://geocr.tul.cz/index.php/Hlavn%C3%AD_strana>.
- [2] ZÁKLADNÍ ÚDAJE O NÁRODNÍM PARKU PODYJÍ [online]. c1998 [cit. 2008-04-01]. Dostupný z WWW: <<http://www.nppodyji.cz/ZAKLADUD.HTM>>.
- [3] Rozvodí Česka [online]. 2007 [cit. 2008-04-14]. Wikipedie. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Rozvod%C3%AD>>.

PŘÍLOHY

Seznam příloh:

1. Seznam odběrových lokalit druhu *E.grubii*
2. Počet zpracovaných jedinců v populaci
3. Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ
4. Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ, bootstrap 500 opakování
5. Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ, barevně znázorněna vnitropopulační variabilita
6. Statigrafické schéma kvartéru s uvedením glaciálů Evropy
7. Charakteristiky lokalit
8. Soubor podrobných map odběrových lokalit

Příloha 1: Seznam odběrových lokalit druhu *E. grubii*.

povodí	kód lokality	lokality	datum odběru	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
Morava	M 01 zabr4	Zábřeh 4	24.4.2006	49 52 24	16 55 04	21
Morava	M 02 zabr1	Zábřeh 1	24.4.2006	49 53 02	16 55 27	21
Morava	M 03 hejtm	Hejtmanka 1	24.4.2006	49 42 41	17 01 26	19
Morava	M 04 cerv1	Červenka 1	24.4.2006	49 43 46	17 04 44	19
Morava	M 05 cerv2	Červenka 2	24.4.2006	49 43 50	17 04 31	19
Morava	M 06 cerv3	Červenka 3	24.4.2006	49 44 03	17 04 01	19
Morava	M 07 stre1	Střeň 1	24.4.2006	49 42 49	17 09 50	18
Odra	O 08 poln1	Polanská niva 1	25.4.2006	49 46 36	18 11 66	22
Odra	O 09 poln3	Polanská niva 3	25.4.2006	49 45 79	18 11 09	22
Odra	O 10 poln4	Polanská niva 4	25.4.2006	49 45 89	18 10 82	22
Odra	O 11 poln5	Polanská niva 5	25.4.2006	49 45 95	18 10 97	22
Odra	O 12 such4	Suchdol 4	25.4.2006	49 39 19	17 57 68	23
Morava, Bečva	M 13 zebr1	Přerov - Žebračka 1	26.4.2006	49 28 05	17 27 02	16
Morava, Bečva	M 14 zebr2	Přerov - Žebračka 2	26.4.2006	49 28 22	17 27 11	16
Morava	M 15 vcel1	Včelín 1	26.4.2006	49 21 24	17 20 32	14
Morava	M 16 vcel2	Včelín 2	26.4.2006	49 21 04	17 20 77	14
Morava	M 17 vcel3	Včelín 3	26.4.2006	49 21 03	17 20 46	14
Morava, Dyje	MD 18 sout4	Soutok 4	27.4.2006	48 39 07	16 57 84	11
Morava, Dyje	MD 19 sout7	Soutok 7	27.4.2006	48 37 92	16 57 03	11
Morava, Dyje	MD 20 sout8	Soutok 8	27.4.2006	48 37 89	16 57 03	11
Morava, Dyje	MD 21 sou10	Soutok 10	27.4.2006	48 38 66	16 56 09	11
Morava, Dyje	MD 22 sou11	Soutok 11	27.4.2006	48 40 65	16 56 39	11
Morava	M 23 ocov2	Očov 2	27.4.2006	48 50 68	17 08 85	32
Morava	M 24 ocov3	Očov 3	27.4.2006	48 51 02	17 09 16	32
Dyje	D 25 bruks	Bruksa 2	28.4.2006	48 45 95	16 52 19	10
Dyje	D 26 bruks	Bruksa 2.1	28.4.2006	48 45 96	16 52 20	10
Labe	L 27 prero	Přerov n. L.	11.5.2006			N
Labe	L 28 libi1	Libice 1	13.5.2006	50 34 52	15 09 47	30
Morava	M 29 kral1	Království 1	20.5.2006			N
Labe	L 30 zabo2	Záboří n. Labem 2	21.3.2007	50 01 17.1	15 19 48.8	3
Labe	L 31 zabo4	Záboří n. Labem 4	21.3.2007	50 01 10	15 19 32.3	3
Labe, Vltava	LV 32 upor2	Úpor 2	23.3.2007	50 20 17.7	14 29 12.5	4
Dyje	D 33 ledn1	Lednice 01	29.3.2007	48 48 15.8	16 47 18.5	9
Dyje	D 34 ledn2	Lednice 02	29.3.2007	48 48 38.9	16 47 34.1	9
Dyje	D 35 ledn3	Lednice 03	29.3.2007	48 48 39.3	16 47 25.6	9
Dyje	D 36 kano1	Kančí 1 (Kančí obora)	29.3.2007	48 46 46.3	16 52 28	10
Dyje	D 37 kano2	Kančí 2 (Kančí obora)	29.3.2007	48 46 4.5	16 52 8.4	10
Dyje	D 38 kano3	Kančí 3 (Kančí obora)	29.3.2007	48 47 7.3	16 51 35.9	10
Dyje	D 39 kano4	Kančí 4 (Kančí obora)	29.3.2007	48 48 7.3	16 50 12.5	9
Morava, Dyje	MD 40 sou13	Soutok 13	30.3.2007	48 41 35.7	16 57 9.7	11
Morava, Dyje	MD 41 sou14	Soutok 14	30.3.2007	48 39 58.9	16 57 40.6	11
Morava, Dyje	MD 42 sou15	Soutok 15	30.3.2007	48 37 53.4	16 57 13.7	11
Morava, Dyje	MD 43 sou16	Soutok 16	30.3.2007	48 39 46	16 56 53.7	11
Morava	M 44 neda2	Nedakonice 02	31.3.2007	49 01 38	17 23 55.3	12
Morava	M 45 kunl1	Kunovický les 1	31.3.2007	49 03 39.8	17 26 40.3	12
Morava	M 46 kunl2	Kunovický les 2	31.3.2007	49 03 39.5	17 26 31.1	12
Morava	M 47 kral3	Království 3	1.4.2007	49 31 01.8	17 17 28.4	15
Morava	M 48 kral5	Království 5	1.4.2007	49 30 34.8	17 17 25.5	15

Morava	M 49 kral6	Království 6	1.4.2007	49 30 34.5	17 17 28.9	15
Morava, Bečva	M 50 zebr3	Žebračka 3	1.4.2007	49 28 19.6	17 27 21	16
Morava	M 51 vcel4	Včelín 4	1.4.2007	49 22 10.7	17 19 34.9	14
Morava	M 52 vcel1	Včelín 1	1.4.2007	49 21 24.1	17 20 32.3	14
Morava	M 53 mora3	Moravičany 3	2.4.2007	49 45 1.8	17 00 19.4	20
Morava	M 54 hejtm	Hejtmanka 1	2.4.2007	49 42 41.3	17 01 25.9	19
Morava	M 55 litov	Litovel 01	2.4.2007	49 42 19.8	17 06 18.3	19
Morava	M 56 stre3	Střeň 3	2.4.2007	49 42 12.2	17 08 53.7	18
Morava	M 57 stre4	Střeň 4	2.4.2007	49 42 18.6	17 09 22.6	18
Morava	M 58 stre6	Střeň 6	2.4.2007	49 40 45.6	17 09 42.2	17
Morava	M 59 horka	Horka 1	2.4.2007	49 39 16.2	17 11 38.4	17
Odra	O 60 poln8	Polanská niva 8	3.4.2007	49 45 48.9	18 11 3.5	22
Odra	O 61 poln9	Polanská niva 9	3.4.2007	49 45 34.7	18 10 51	22
Odra	O 62 poln5	Polanská niva 5	3.4.2007	49 45 57.1	18 10 58.4	22
Odra	O 63 such5	Suchdol 5	3.4.2007	49 39 2.7	17 57 45.5	23
Odra	O 64 such4	Suchdol 4	3.4.2007	49 39 11.8	17 57 41	23
Morava	M 65 zabr5	Zábřeh 5	4.4.2007	49 51 47.2	16 55 13.7	21
Morava	M 66 zabr1	Zábřeh 1	4.4.2007	49 53 1.6	16 55 26.6	21
Morava	M 67 zabr6	Zábřeh 6	4.4.2007	49 52 31.1	16 55 23.5	21
Labe	L 68 pohra	Pohránov 1	12.4.2007	50 04 28.0	15 45 06.0	24
Labe	L 69 ceper	Čeperka 1	12.4.2007	50 08 04.2	15 45 40.0	25
Orlice	OR 70 belec	Běleč 1	13.4.2007	50 12.070	15 55.650	26
Labe	L 71 kokor	Kokořínsko	2.4.2007	50 27 22.7	14 28 28.4	31
Labe	L 72 libi2	Libice 2	21.4.2007	50 06 6,42	15 10 49,14	30
Labe	L 73 libi4	Libice 4	21.4.2007	50 06 59	15 10 10	30
Labe	L 74 libi1	Libice 1	20.4.2005	50 34 52	15 09 47	30
Labe	L 75 libi3	Libice 3	20.4.2005	50 06 56	15 10 23	30
Labe	L 76 libi4	Libice 4	20.4.2005	50 06 59	15 10 10	30
Labe	L 77 libi4	Libický luh 4	20.4.2005	50 06 54	15 10 12	30
Labe	L 78 libi5	Libice 5	20.4.2005	50 07 05	15 10 07	30
Morava	M 79 stre	Střeň	27.4.2005	49 42 09	17 08 53	18
Morava	M 80 stre6	Střeň 6	27.4.2005	49 40 40	17 10 07	17
Morava	M 81 stre	Střeň	27.4.2005	49 40 42	17 09 56	18
Morava	M 82 horka	Tři mosty - Horka1	27.4.2005	49 39 17	17 11 39	17
Morava	M 83 hork2	Tři mosty - Horka 2	27.4.2005	49 39 23	17 11 47	17
Odra	O 84 such9	Suchdol	28.4.2005	49 38 54	17 57 43	23
Odra	O 85 such10	Suchdol	28.4.2005	49 38 58	17 57 32	23
Odra	O 86 such11	Suchdol	28.4.2005	49 39 06	17 57 52	23
Odra	O 87 such12	Suchdol	28.4.2005	49 39 17	17 57 58	23
Odra	O 88 such13	Suchdol	28.4.2005	49 39 22	17 58 06	23
Odra	O 89 such14	Suchdol	28.4.2005	49 39 30	17 57 52	23
Odra	O 90 such4	Suchdol 4	28.4.2005	49 39 13	17 57 40	23
Morava	M 91 mlade	Mladeč	28.4.2005	49 42 43	17 01 53	19
Morava	M 92 litpo	Litovel.Pomoraví	28.4.2005	49 42 41	17 01 28	19
Morava	M 93 hejtm	Hejtmanka 1	28.4.2005	49 42 39	17 01 31	19
Morava	M 94 zabr1	Zábřeh n. M. 1	30.4.2005	49 52 22	16 55 07	21
Morava	M 95 zabr2	Zábřeh n. M. 2	30.4.2005	49 53 02	16 55 27	21

N – u těchto lokalit nebyly změřeny souřadnice, tzn. nejsou zakresleny v mapě.

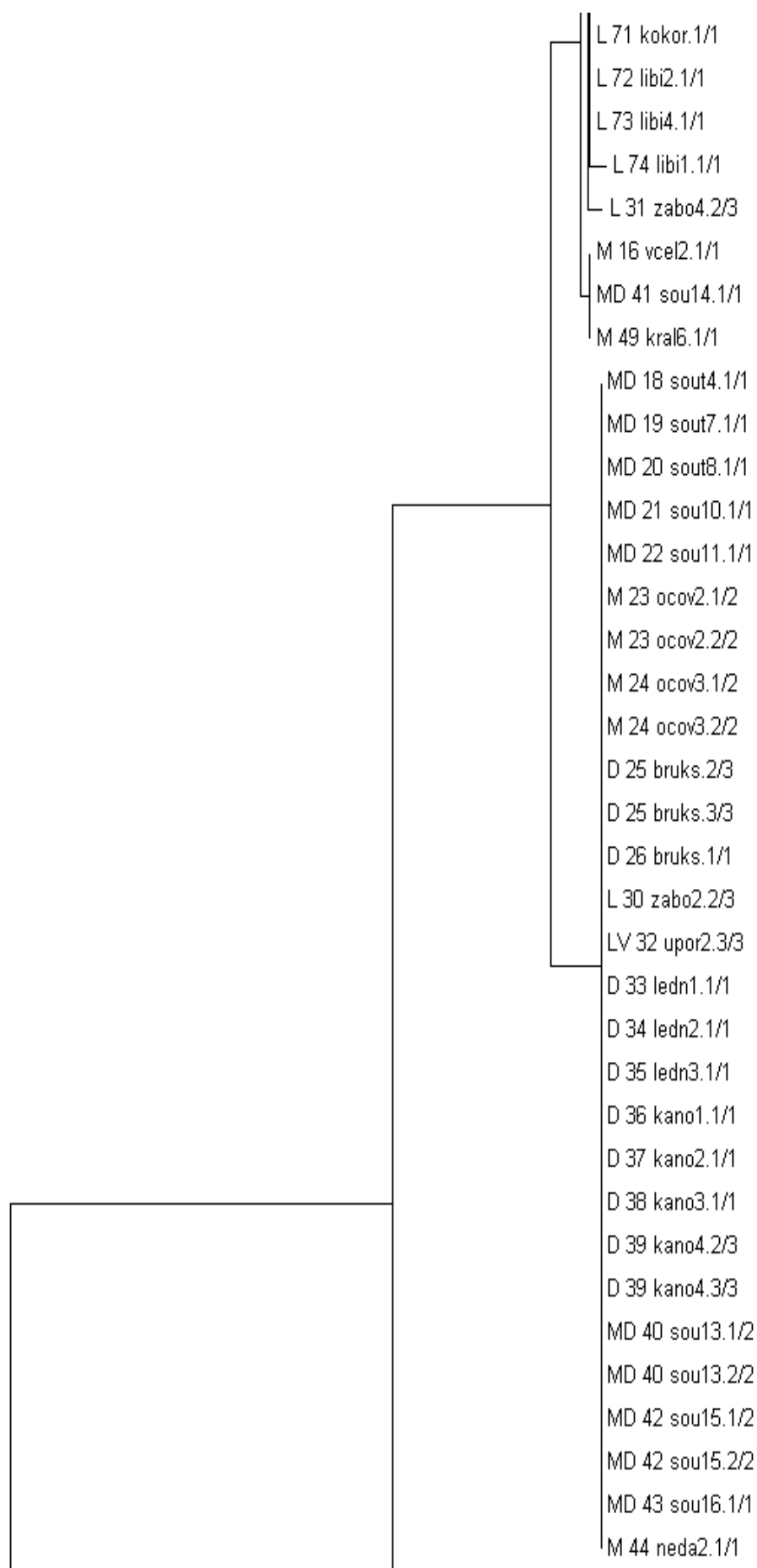
Příloha 2: Počet zpracovaných jedinců v populaci

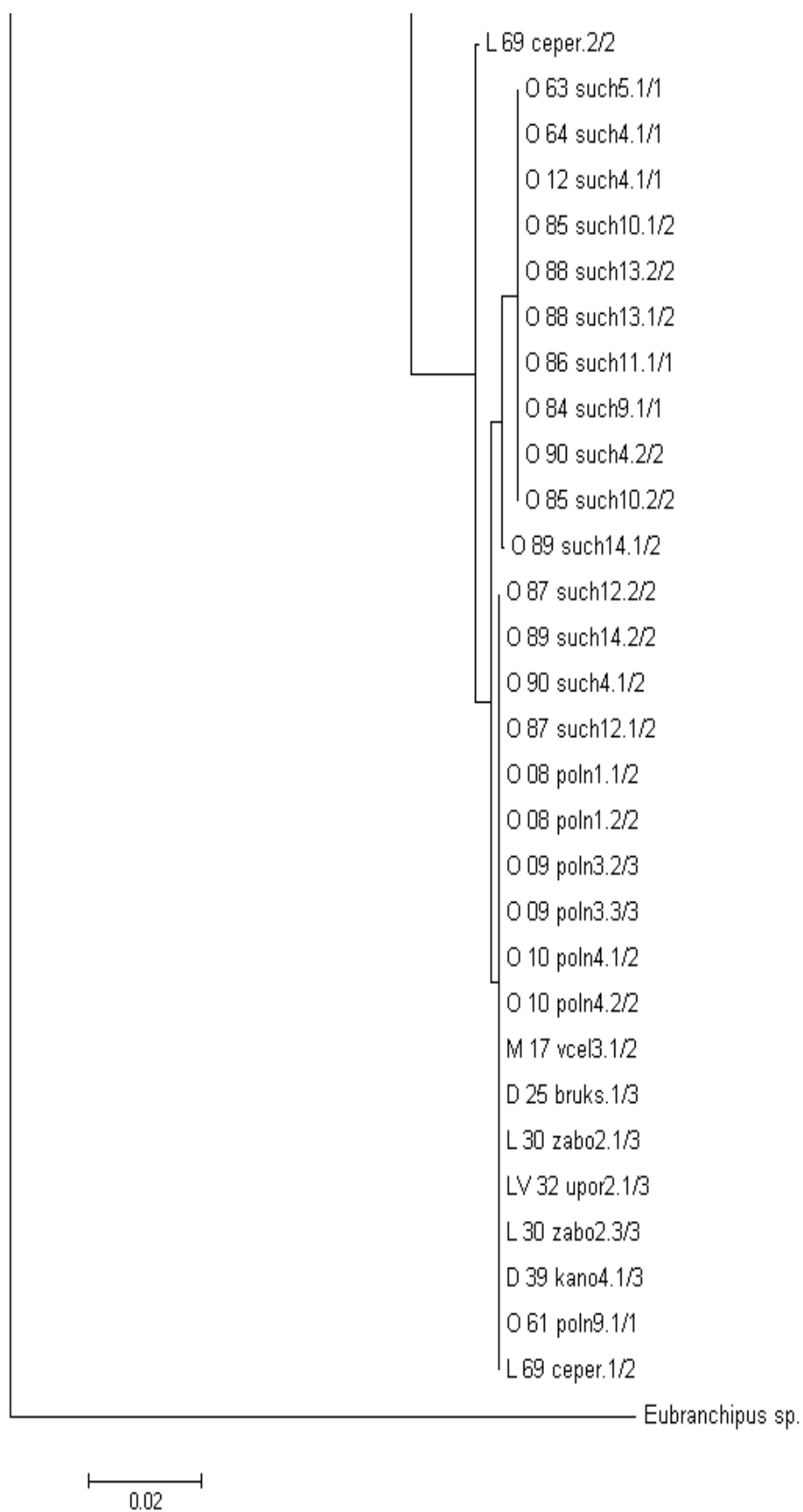
kód lokality	počet jedinců	kód lokality	počet jedinců
M 01 zabr4	1	M 49 kral6	1
M 02 zabr1	1	M 50 zebr3	1
M 03 hejtm	1	M 51 vcel4	1
M 04 cerv1	1	M 52 vcel1	1
M 05 cerv2	1	M 53 mora3	1
M 06 cerv3	1	M 54 hejtm	1
M 07 stre1	1	M 55 litov	1
O 08 poln1	2	M 56 stre3	1
O 09 poln3	3	M 57 stre4	1
O 10 poln4	2	M 58 stre6	1
O 11 poln5	2	M 59 horka	1
O 12 such4	1	O 60 poln8	3
M 13 zebr1	1	O 61 poln9	1
M 14 zebr2	1	O 62 poln5	2
M 15 vcel1	1	O 63 such5	1
M 16 vcel2	1	O 64 such4	1
M 17 vcel3	2	M 65 zabr5	1
MD 18 sout4	1	M 66 zabr1	1
MD 19 sout7	1	M 67 zabr6	1
MD 20 sout8	1	L 68 pohra	1
MD 21 sou10	1	L 69 ceper	2
MD 22 sou11	1	OR 70 belec	1
M 23 ocov2	2	L 71 kokor	1
M 24 ocov3	2	L 72 libi2	1
D 25 bruks	3	L 73 libi4	1
D 26 bruks	1	L 74 libi1	1
L 27 prero	1	L 75 libi3	2
L 28 libi1	1	L 76 libi4	2
M 29 kral1	1	L 77 libl4	1
L 30 zabo2	3	L 78 libi5	2
L 31 zabo4	3	M 79 stre	2
LV 32 upor2	3	M 80 stre6	2
D 33 ledn1	1	M 81 stre	2
D 34 ledn2	1	M 82 horka	1
D 35 ledn3	1	M 83 hork2	2
D 36 kano1	1	O 84 such9	1
D 37 kano2	1	O 85 such10	2
D 38 kano3	1	O 86 such11	1
D 39 kano4	3	O 87 such12	2
MD 40 sou13	2	O 88 such13	2
MD 41 sou14	1	O 89 such14	2
MD 42 sou15	2	O 90 such4	2
MD 43 sou16	1	M 91 mlade	2
M 44 neda2	1	M 92 litpo	2
M 45 kunl1	1	M 93 hejtm	2
M 46 kunl2	1	M 94 zabr1	2
M 47 kral3	1	M 95 zabr2	2
M 48 kral5	1		

Příloha 3: Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ. Měřítko odpovídá 2 % rozdílu v nukleotidovém složení sekvencí. Kódy lokalit viz. příloha 1.

M 57 stre4.1/1
M 58 stre6.1/1
M 56 stre3.1/1
M 55 litov.1/1
M 54 hejtm.1/1
M 53 mora3.1/1
M 52 vcel1.1/1
M 51 vcel4.1/1
M 50 zebr3.1/1
M 48 kral5.1/1
M 47 kral3.1/1
M 46 kun2.1/1
M 45 kun1.1/1
L 31 zabo4.3/3
LV 32 upor2.2/3
L 31 zabo4.1/3
M 29 kral1.1/1
L 28 libi1.1/1
L 27 prero.1/1
M 17 vcel3.2/2
M 15 vcel1.1/1
M 14 zebr2.1/1
M 13 zebr1.1/1
O 11 poln5.2/2
O 11 poln5.1/2
O 09 poln3.1/3
M 07 stre1.1/1
M 06 cerv3.1/1
M 05 cerv2.1/1
M 04 cerv1.1/1
M 03 hejtm.1/1
M 02 zabr1.1/1
M 01 zabr4.1/1
L 75 libi3.1/2
L 78 libi5.1/2

L 76 libi4.1/2
 M 83 hork2.1/2
 M 91 mlade.1/2
 M 81 stre.1/2
 M 92 litpo.1/2
 M 94 zabr1.1/2
 M 93 hejtm.1/2
 M 80 stre6.1/2
 M 79 stre.1/2
 M 95 zabr2.1/2
 M 95 zabr2.2/2
 M 94 zabr1.2/2
 M 93 hejtm.2/2
 M 92 litpo.2/2
 M 83 hork2.2/2
 M 82 horka.1/1
 M 91 mlade.2/2
 M 79 stre.2/2
 M 81 stre.2/2
 L 77 libi4.1/1
 L 78 libi5.2/2
 L 75 libi3.2/2
 M 80 stre6.2/2
 L 76 libi4.2/2
 M 59 horka.1/1
 O 60 poln8.1/3
 O 60 poln8.2/3
 O 60 poln8.3/3
 O 62 poln5.1/2
 O 62 poln5.2/2
 M 65 zabr5.1/1
 M 66 zabr1.1/1
 M 67 zabr6.1/1
 L 68 pohra.1/1
 OR 70 belec.1/1

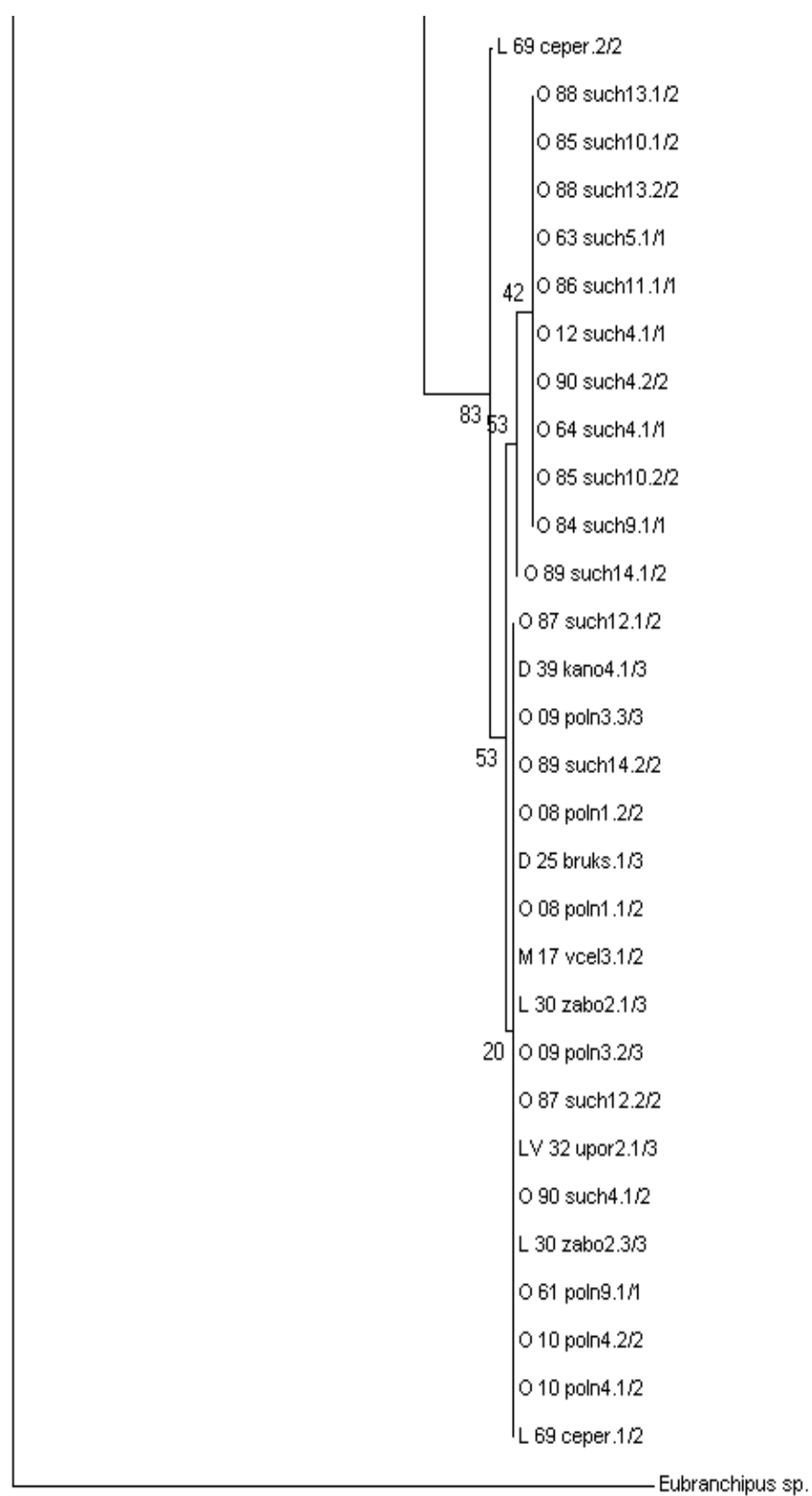




Příloha 4: Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ, bootstrap 500 opakování.

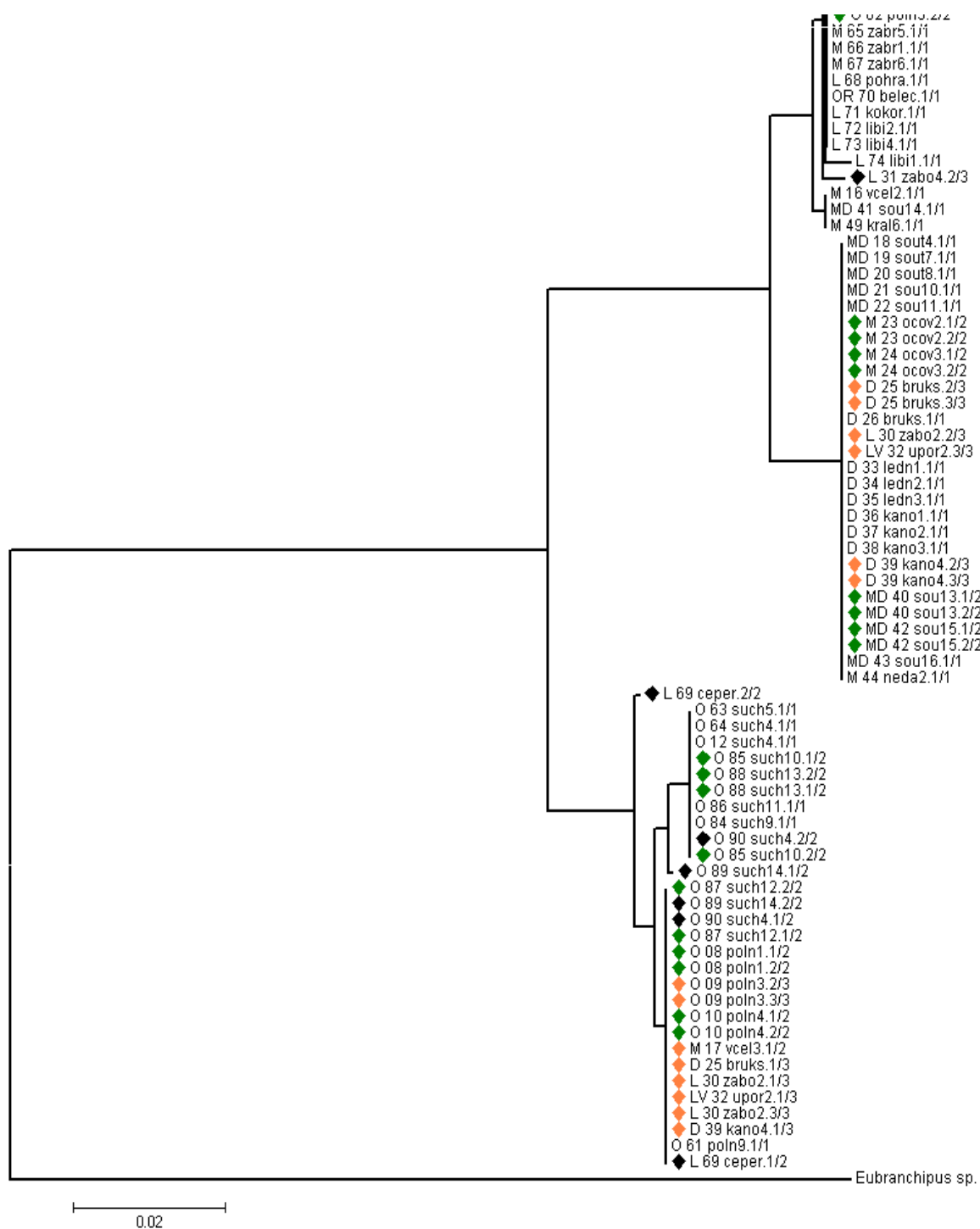
L 76 libi4.2/2
M 79 stre.2/2
M 05 cerv2.1/1
L 75 libi3.2/2
O 11 poln5.2/2
M 93 hejtm.1/2
M 04 cerv1.1/1
M 46 kunl2.1/1
M 93 hejtm.2/2
M 54 hejtm.1/1
M 03 hejtm.1/1
LV 32 upor2.2/3
O 62 poln5.1/2
M 45 kunl1.1/1
L 68 pohra.1/1
L 31 zabo4.3/3
M 02 zabr1.1/1
L 75 libi3.1/2
M 92 litpo.1/2
M 07 stre1.1/1
L 78 libi5.2/2
M 94 zabr1.1/2
O 60 poln8.1/3
M 48 kral5.1/1
M 57 stre4.1/1
L 28 libi1.1/1
M 81 stre.2/2
M 56 stre3.1/1
L 78 libi5.1/2
L 71 kokor.1/1
M 81 stre.1/2
M 82 horka.1/1
M 06 cerv3.1/1
M 51 vcel4.1/1
L 73 libi4.1/1
L 27 prero.1/1
24 M 14 zebr2.1/1
M 59 horka.1/1
M 15 vcel1.1/1

	L 72 libi2.1/1
	M 83 hork2.2/2
	O 11 poln5.1/2
	M 50 zebr3.1/1
	M 66 zabr1.1/1
	M 79 stre.1/2
	O 60 poln8.2/3
	L 76 libi4.1/2
	M 01 zabr4.1/1
	L 77 libi4.1/1
	M 92 litpo.2/2
	M 47 kral3.1/1
	M 80 stre6.1/2
	M 95 zabr2.2/2
	O 09 poln3.1/3
37	M 83 hork2.1/2
	M 52 vcel1.1/1
	M 95 zabr2.1/2
	OR 70 belec.1/1
	M 94 zabr1.2/2
	M 17 vcel3.2/2
	O 62 poln5.2/2
	M 53 mora3.1/1
	M 67 zabr6.1/1
	M 13 zebr1.1/1
50	M 29 kral1.1/1
	M 58 stre6.1/1
	M 55 litov.1/1
	M 65 zabr5.1/1
	M 91 mlade.1/2
	O 60 poln8.3/3
77	L 31 zabo4.1/3
	M 80 stre6.2/2
	M 91 mlade.2/2



Příloha 5: Fylogram z 136 sekvencí části genu pro COI vytvořený metodou NJ, barevně znázorněna vnitropopulační variabilita





Zelená barva označuje jedince v populaci, kteří se zařadili identicky, tzn. stejný haplotyp ve stejné skupině. Černě jsou označeny sekvence jedinců, kteří jsou ve stejné skupině, ale mají odlišný haplotyp. Oranžová barva označuje jedince, kteří se rozdělili do různých skupin a haplotypů. Barevně neoznačené sekvence patří populacím, ve kterých byl analyzován jen jeden jedinec.

Příloha 5: Statigrafické schéma kvartéru s uvedením glaciálů Evropy.

Pleistocénní zalednění bylo záležitostí globální. Z toho plyne nejednotnost v označování jednotlivých glaciálů probíhajících v Severní Americe nebo Evropě. Rozdílné pojmenování se užívá navíc pro horské zalednění Evropy (Alpy, Karpaty) a severoevropské kontinentální zalednění

roky BP	kvartér		horské zalednění Alp		pevninské zalednění (Skandinávský ledovec)	
	oddělení	pododdělení	glaciály	interglaciály	glaciály	interglaciály
10 300	holocén					
130 000	pleistocén	svrchní	würm	weichsel		
			riss / würm		eem	
		střední	riss	saal		
			mindel / riss		holstein	
			mindel	elster (halštrovský)		
			günz / mindel		cromer (několik glaciálů a interglaciálů)	
			günz	bavel (několik glaciálů a interglaciálů)		
			donau / günz			
		spodní		menap		
			donau	waal		
788 000						
1 650 000				eburon		

BP = before present

Zdroj: Petránek 1993, Chlupáč 2002

Příloha 6: Charakteristiky lokalit

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost (μS.cm ⁻¹)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a (μg.l ⁻¹)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organismy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
	Přelouč 2										<i>Cyclopoida</i>	21.3.07	50 03 4.5	15 33 32.8	1
	Přelouč 1										<i>Cyclopoida</i>	21.3.07	50 02 50.0	15 33 35.3	1
	Kolesa	5,1	919	65	8,3	7,0	4,4				<i>Asellus aquaticus</i> , <i>Chaoborus</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Simocephalus</i> sp., <i>Daphnia</i> sp.	21.3.07	50 04 56.5	15 28 52.1	2
L 30 zabo2	Záboří n. L. 2	5,2	373	54	6,8	6,7	4,4		20		<i>Eubbranchipus grubii</i>	21.3.07	50 01 17.1	15 19 48.8	3
	Záboří n. L. 3	4,2	680	43	5,6	7,0	4,4		40		<i>neodebráno</i>	21.3.07			3
L 31 zabo4	Záboří n. L. 4	4,7	570	68	8,6	6,7	4,4		15		<i>Asellus aquaticus</i> , <i>Mochlonyx</i> sp.	21.3.07			3
	Úpor 1	5,4	411	106	13,4	6,7	4,4		50	400	<i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Asellus aquaticus</i>	23.3.07	50 20 14.3	14 29 9.9	4
LV 32 upor2	Úpor 2	6,6	864	164	20,3	7,8	4,5				<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	23.3.07	50 20 17.7	14 29 12.5	4
	Černínovsko 1	7,6	1750	85	10,0	7,5	4,4		20		<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i>	23.3.07	50 17 13.2	14 30 21.5	5
	Černínovsko 2	5,5	1270	28	3,5	7,4	4,4		40	37	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> ; larvy vážek	23.3.07			5
	Drnholec 1										<i>Cyclopoida</i>	28.3.07	48 50 51.6	16 29 2.5	6
	Drnholec 2	7,8	1574	82	9,4	7,7	4,5	30	90		<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i> , Amphipoda	28.3.07			6

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost (µS.cm ⁻¹)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a (µg.l ⁻¹)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organismy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
	Plačkův les 1	8,4	1300	49	5,7	7,4	4,4	41	60		<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Amphipoda</i>	28.3.07	48 56 41.6	16 35 43.5	7
	Plačkův les 2	10,1	1226	60	6,7	7,6	4,5	30	40	5000	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i>	28.3.07	48 56 54.1	16 35 59.8	7
	Mošovský luh 1	9,9	1570	100	11,3	7,4	4,4	42	120		<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i>	28.3.07	48 54 44.4	16 34 41.7	8
	Mošovský luh 2	14,1	2391	111	11,1	7,9	4,5	35	40	100	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i>	28.3.07	48 54 35.3	16 35 23.8	8
D 33 ledn1	Lednice 1	8,0	715	36	4,2	7,6	4,5	30	35	850	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 48 15.8	16 47 18.5	9
D 34 ledn2	Lednice 2	9,0	1373	96	11,0	7,5	4,4	22	50	800	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 48 38.9	16 47 34.1	9
D 35 ledn3	Lednice 3	8,3	1274	100	11,4	7,8	4,5	36	100		<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 48 39.3	16 47 25.6	9
D 36 kano1	Kančí 1	8,4	947	73	8,5	7,4	4,4	45	50	150	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Calanoida</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 46 46.3	16 52 28	10

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organizmy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
D 37 kano2	Kančí 2	9,5	522	92	10,5	7,7	4,5	50	50	10000	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Lepidurus</i> <i>apus</i> , <i>Eubbranchipus</i> <i>grubii</i>	29.3.07	48 46 4.5	16 52 8.4	10
D 38 kano3	Kančí 3	9,0	1888	30	3,0	7,1	4,4	32	50	200	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 47 7.3	16 51 35,9	10
D 39 kano4	Kančí 4	8,4	1037	47	5,4	7,4	4,4	30	60	400	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	29.3.07	48 48 7.3	16 50 12.5	9
MD 40 sou13	Soutok 13	8,1	910	33	3,9	6,4	4,4	20	60	40	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	30.3.07	48 41 35.7	16 57 9.7	11
MD 41 sou14	Soutok 14	8,4	723	95	10,9	7,2	4,4	25	100	1074	<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	30.3.07	48 39 58.9	16 57 40.6	11
MD 42 sou15	Soutok 15	10,6	602	115	12,7	7,5	4,5	25	80		<i>Daphnia</i> sp., <i>Cyclopoida</i> , <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Chaoborus</i> sp., <i>Lepidurus apus</i>	30.3.07	48 37 53.4	16 57 13.7	11
MD 43 sou16	Soutok 16										<i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Cyclopoida</i>	30.3.07	48 39 46	16 56 53.7	11
M 44 neda2	Nedakonice 2	8,5	795	36	4,2	7,6	4,5	34	25	40	<i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Cyclopoida</i> , <i>Daphnia</i> sp.	31.3.07	49 01 38	17 23 55.3	12

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organizmy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
M 45 kun1	Kunovický les 1	14,7	1731	17	1,7	6,7	4,4	17	20	4	<i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Daphnia</i> sp.	31.3.07	49 03 39.8	17 26 40.3	12
M 46 kun12	Kunovický les 2	9,3	1628	66	7,4	7,1	4,4	20	60	200	<i>Daphnia</i> sp., Cyclopoida, <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	31.3.07	49 03 39.5	17 26 31.1	12
	Filena 1	9,7	314	71	8,0	7,3	4,4	17	50	16	<i>Daphnia</i> sp., Cyclopoida, <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i>	31.3.07	49 15 49	17 28 54	13
	Filena 2	10,6	858	110	12,2	7,7	4,5	34	80		<i>Daphnia</i> sp., Cyclopoida, <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i>	31.3.07	49 16 0.3	17 28 53	13
M 47 kral3	Království 3	7,1	182	87	10,6	7,6	4,5	20	40	200	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , Cyclopoida, Calanoida, <i>Eubbranchipus grubii</i>	1.4.07	49 31 01.8	17 17 28.4	15
M 48 kral5	Království 5	7,9	793	55	6,5	7,1	4,4	40	30	40	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i>	1.4.07	49 30 34.8	17 17 25.5	15
M 49 kral6	Království 6	7,9	442	52	6,2	7,1	4,4	51	80	100	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i> ; velcí potápníci	1.4.07	49 30 34.5	17 17 28.9	16
M 50 zebr3	Žebračka 3	10,8	520	76	8,4	7,1	4,4	29	50	2000	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus</i> <i>aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i>	1.4.07	49 28 19.6	17 27 21	16

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organizmy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
M 51 vcel4	Včelín 4	11,8	1028	71	7,6	6,9	4,4	26	40	10	<i>Daphnia</i> sp., Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i> , čolek	1.4.07	49 22 10.7	17 19 34.9	14
M 52 vcel1	Včelín 1	8,1	662	46	5,4	6,8	4,4	41	70	1500	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i>	1.4.07	49 21 24.1	17 20 32.3	14
M 53 mora3	Moravičany 3	8,2	235	21	2,5	6,9	4,4	27	70	150	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i> ; larvy chrostíků	2.4.07	49 45 1.8	17 00 19.4	20
M 54 hejtm	Hejtmanka 1	7,9	530	65	7,8	7,3	4,4	25	90		<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	49 42 41.3	17 01 25.9	19
M 55 litov	Litovel 1	10,7	353	64	7,1	7,4	4,4	46	50	200	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	49 42 19.8	17 06 18.3	19
M 56 stre3	Střeň 3	10,2	535	91	10,2	7,6	4,5	50	80	400	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	49 42 12.2	17 08 53.7	18
M 57 stre4	Střeň 4	20,1	206	119	10,8	7,9	4,5	38	30	200	<i>Daphnia</i> sp., Cyclopoida, <i>Lepidurus apus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	49 42 18.6	17 09 22.6	18
	Střeň 5										<i>Daphnia</i> sp.	2.4.07	49 42 17	17 09 26.4	18
M 58 stre6	Střeň 6	9,5	449	100	11,4	7,7	4,5	39	100	smuha	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , Cyclopoida, <i>Eubbranchipus grubii</i> ; <i>Chaoborus</i> sp.	2.4.07	49 40 45.6	17 09 42.2	17

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost (µS.cm ⁻¹)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a (µg.l ⁻¹)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organizmy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
M 59 horka	Horka 1	15,2	267	70	6,5	7,6	4,5	37	35	8	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	49 39 16.2	17 11 38.4	17
O 60 poln8	Polanská niva 8	6,1	245	64	7,9	6,8	4,4	31	50	40	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Cyclopoida</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	3.4.07	49 45 48.9	18 11 3.5	22
O 61 poln9	Polanská niva 9	7,0	272	39	4,7	6,8	4,4	35	40	18	<i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Cyclopoida</i>	3.4.07	49 45 34.7	18 10 51	22
O 62 poln5	Polanská niva 5	11,9	170	82	8,9	6,7	4,4	36	15	18	<i>Eubbranchipus grubii</i> , <i>Oligochaeta</i>	3.4.07	49 45 57.1	18 10 58.4	22
O 63 such5	Suchdol 5	8,9	272	32	3,7	6,9	4,4	38	40	200	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Cyclopoida</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	3.4.07	49 39 2.7	17 57 45.5	23
O 64 such4	Suchdol 4	10,6	232	51	5,7	6,6	4,4	38	20	100	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Cyclopoida</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	3.4.07	49 39 11.8	17 57 41	23
M 65 zabr5	Zábřeh 5	7,7	413	53	6,3	6,1	4,4	22	70	60	<i>Daphnia</i> sp., <i>Eubbranchipus grubii</i>	4.4.07	49 51 47.2	16 55 13.7	21
M 66 zabr1	Zábřeh 1	9,2	670	67	6,9	6,9	4,4	45	70	250	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	4.4.07	49 53 1.6	16 55 26.6	21
M 67 zabr6	Zábřeh 6	8,6	251	56	6,6	7,1	4,4	50	40	130	<i>Daphnia</i> sp., <i>Eubbranchipus grubii</i>	4.4.07	49 52 31.1	16 55 23.5	21
L 68 pohra	Pohránov 1	9,6	833	59	6,7	6,4	4,4	44			<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	12.4.07	50 04 28.0	15 45 06.0	24
	Opatovice 1	18,7	345	99	9,2	7,4	4,4	42			<i>Daphnia</i> sp., <i>Lepidurus apus</i>	12.4.07			25

kód	lokalita	teplota (°C)	vodivost (µS.cm ⁻¹)	O ₂ (%)	O ₂ (mg.l ⁻¹)	pH	chlorofyl-a (µg.l ⁻¹)	průhlednost vody (cm)	hloubka max. (cm)	plocha (m ²)	pozorované organismy	datum	zeměpisná šířka	zeměpisná délka	mapa
	Opatovice 2	19,1	450	161	14,9	7,7	4,5	16			<i>Daphnia</i> sp.	12.4.07			25
L 69 ceper	Čeperka 1	12,8	118	13	1,4	6,5	4,4	8			<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i> ; Ostracoda	12.4.07	50 08 04.2	15 45 40.0	25
	Smiřice 1	11,9	1530	13	1,4	7,5	4,5	18			<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i>	12.4.07	50 17.447	15 51.856	29
	Častolovice 1	8,9	750	37	4,3	7,5	4,4	34	70		<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i>	13.4.07	50 07.493	16 11.377	28
	Lípa 1	11,5	300	54	5,8	7,7	4,5	19	50	40	<i>Daphnia</i> sp.	13.4.07			
	Týniště 1	12,4	264	32	3,4	7,3	4,4	31	60		<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> ; pijavky, ploštěnky	13.4.07	50 09.171	16 03.844	27
OR 70 belec	Běleč 1	23,5	393	28	2,3	7,4	4,4	18	15	150	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i> ; larvy chrostíků	13.4.07	50 12.070	15 55.650	26
L 71 kokor	Kokořínsko								20	3	<i>Eubbranchipus grubii</i>	2.4.07	50 27 22.7	14 28 28.4	31
	Libice 1	9,7	1016	131	1,5	7,1	4,4	28			<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i>	21.4.07	50 05 52,00	15 09 47,00	30
L 72 libi2	Libice 2	9,9	1261	74	8,3	7,5	4,5	35	20	50	<i>Daphnia</i> sp., <i>Eubbranchipus grubii</i>	21.4.07	50 06 6,42	15 10 49,14	30
	Libice 3	9,0	1644	55	6,3	7,3	4,4	46	30	7	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i>	21.4.07	50 06 56,00	15 10 23,00	30
L 73 libi4	Libice 4	12,9	574	57	5,4	7,3	4,4	36	20	300	<i>Daphnia</i> sp., <i>Asellus aquaticus</i> , <i>Eubbranchipus grubii</i>	21.4.07	50 06 59,00	15 10 10,00	30
	Libice 5	15,0	1014	56	5,6	7,5	4,5	30	10	7	<i>Daphnia</i> sp.	21.4.07	50 07 5,23	15 10 6,74	30

Mapa 1



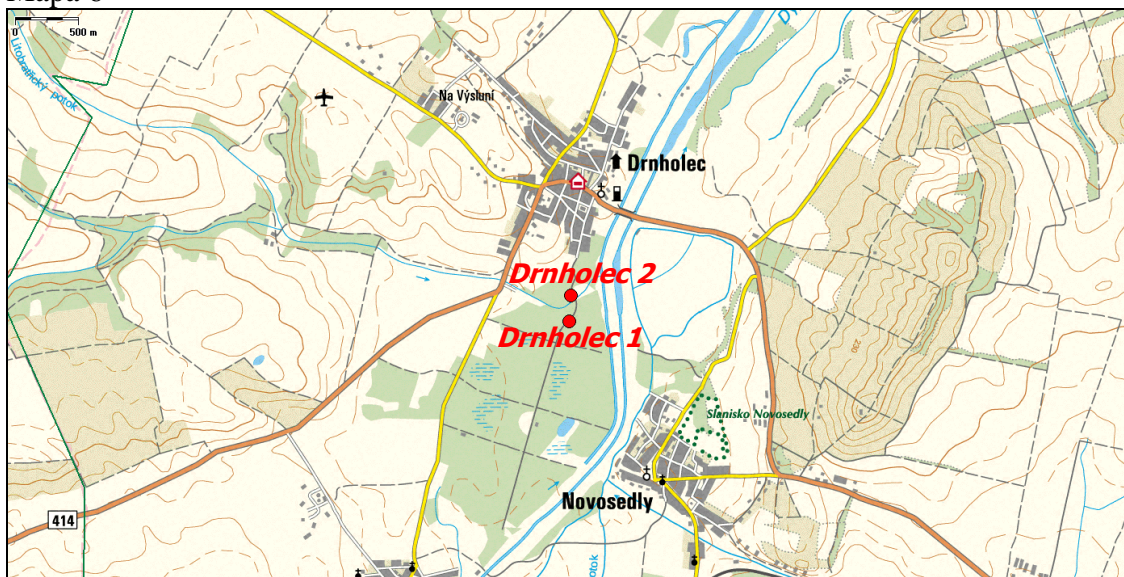
Mapa 4



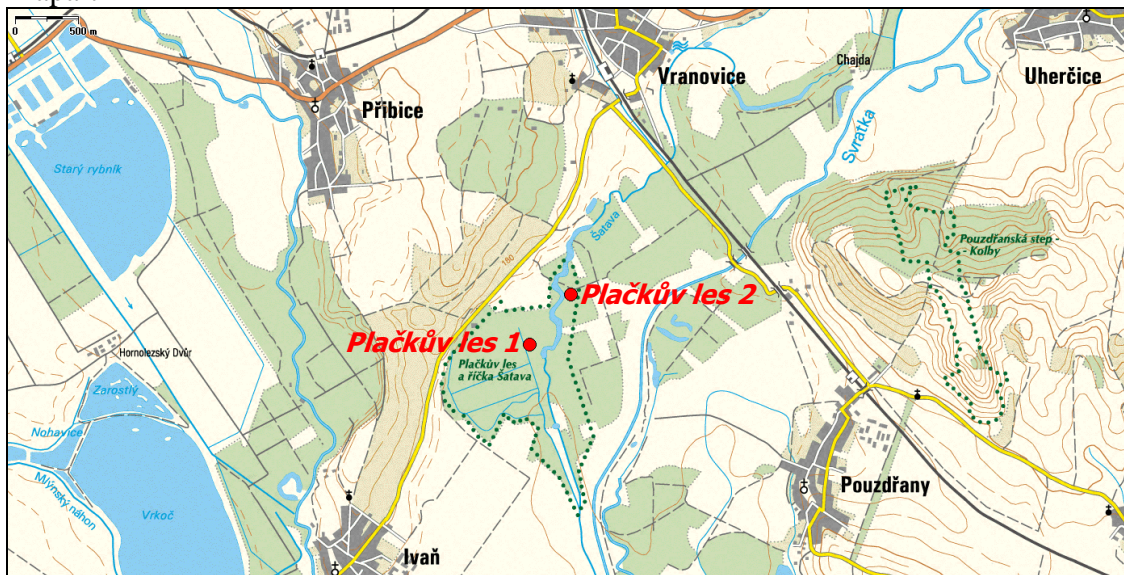
Mapa 5



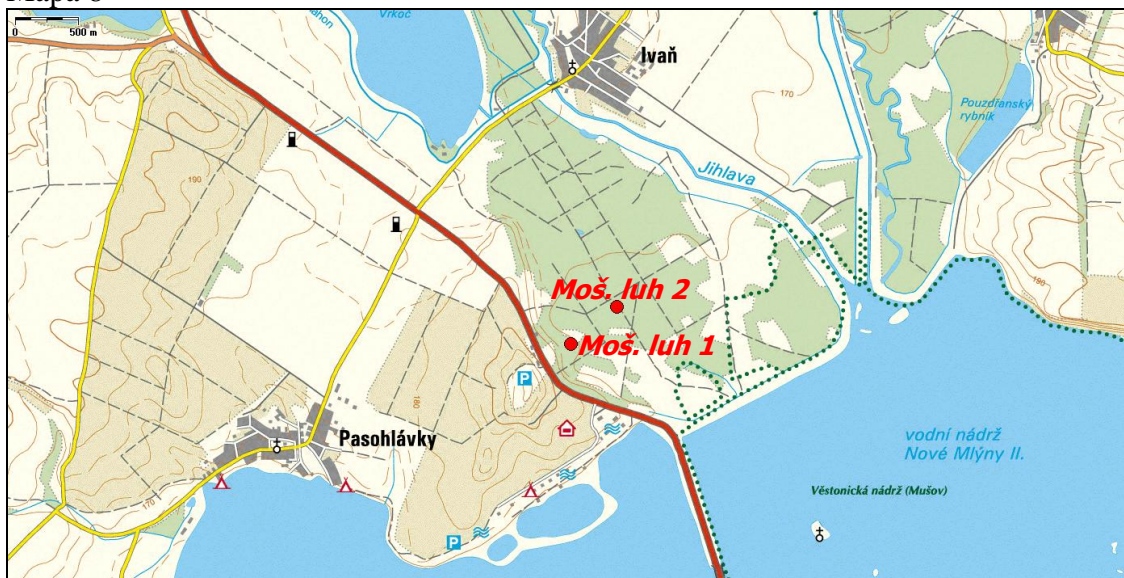
Mapa 6



Mapa 7



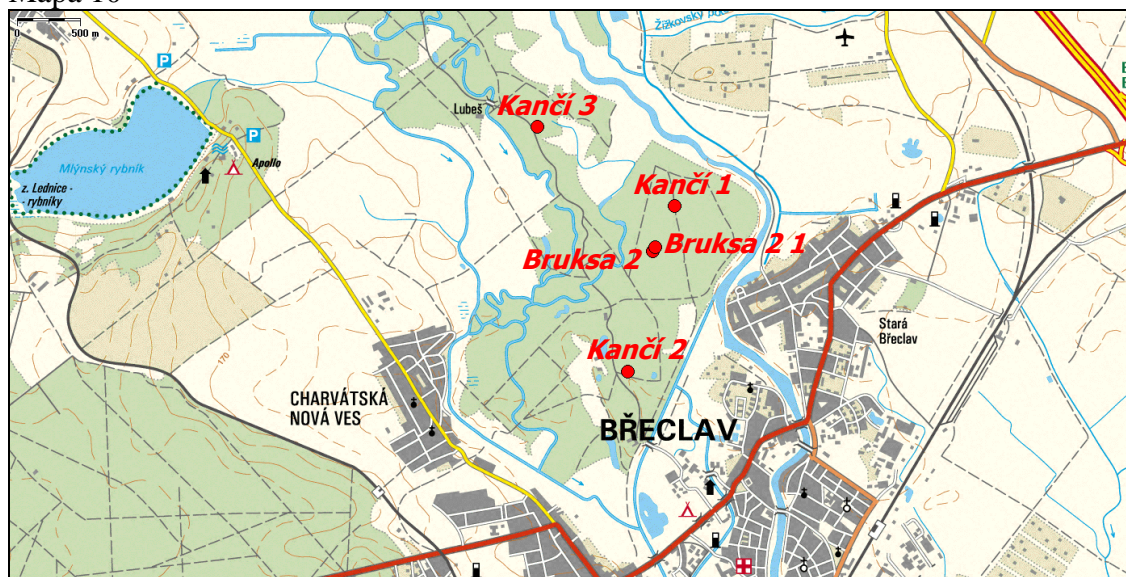
Mapa 8



Mapa 9



Mapa 10



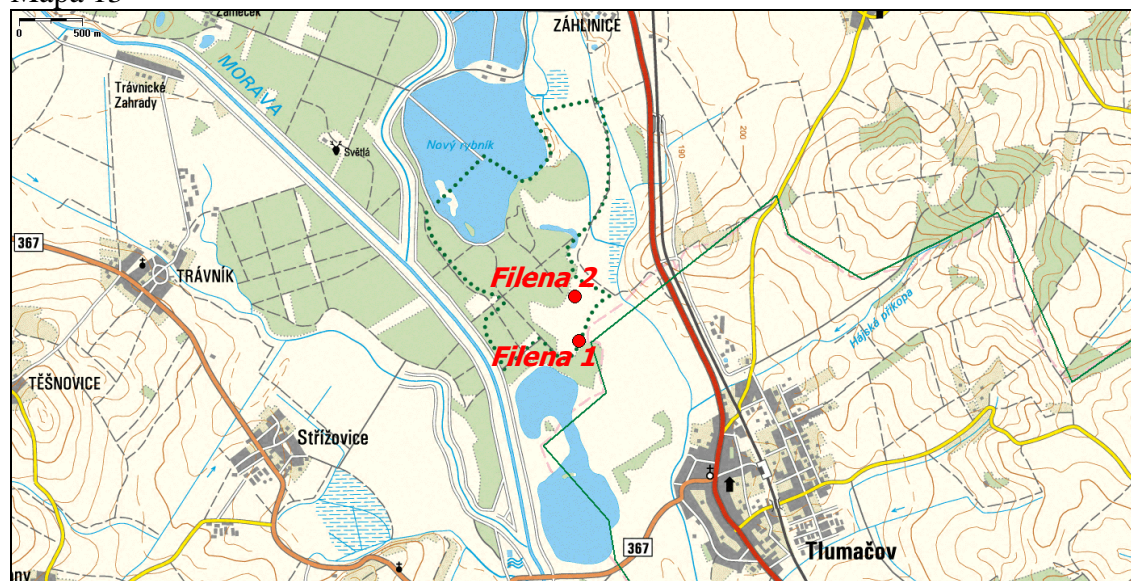
Mapa 11



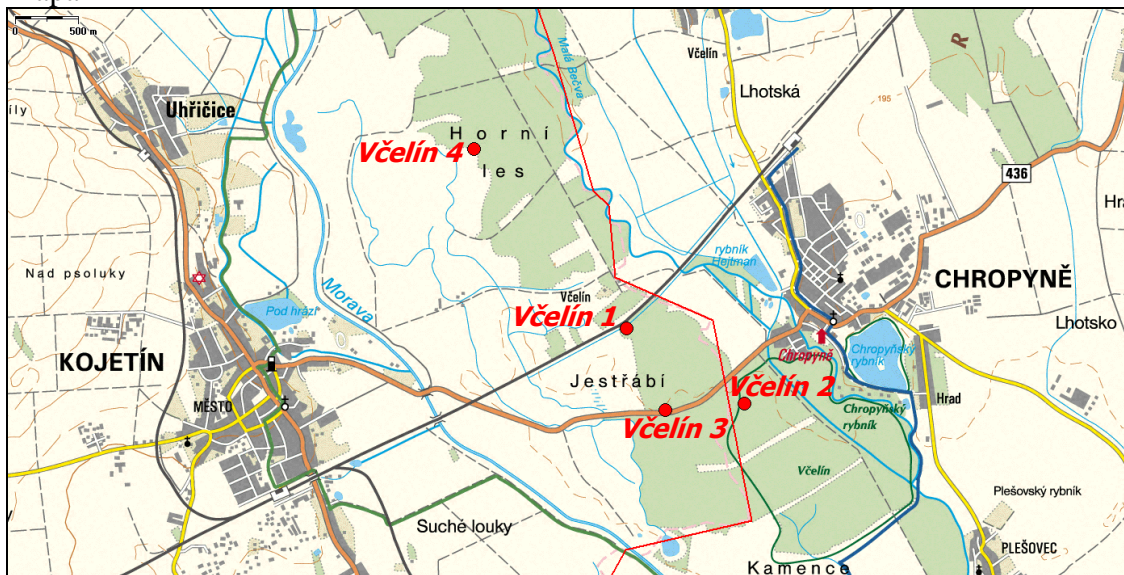
Mapa 12



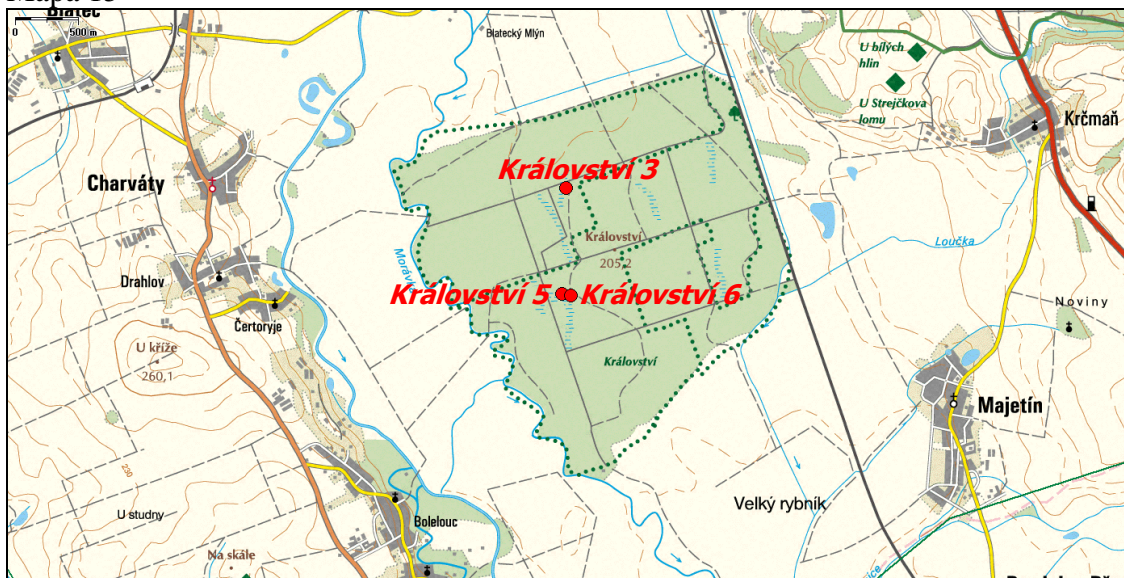
Mapa 13



Mapa 14



Mapa 15



Mapa 16



Mapa 17



Mapa 18



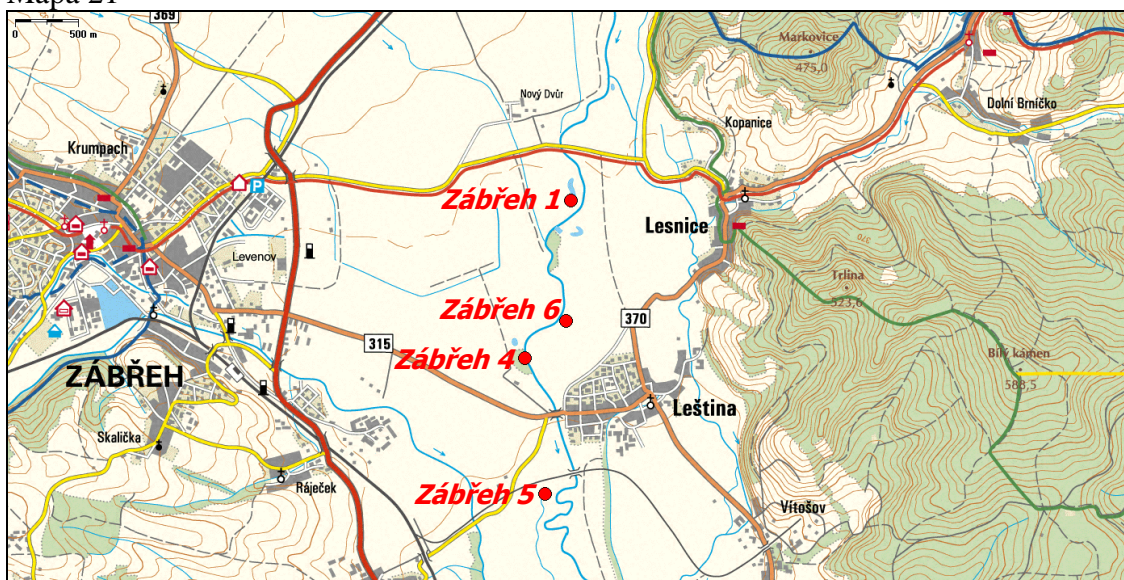
Mapa 19



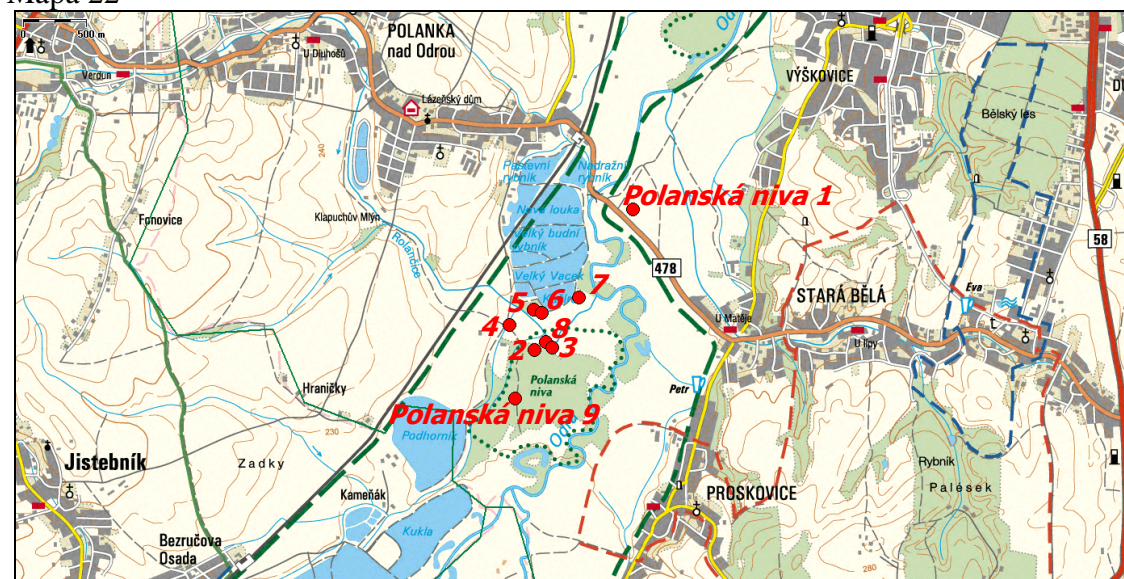
Mapa 20



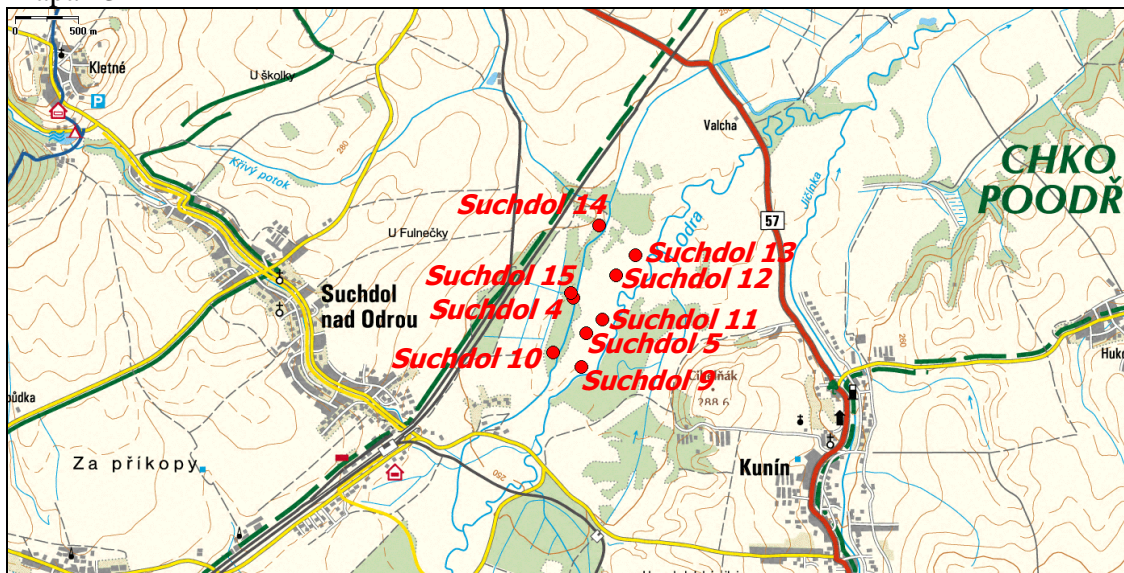
Mapa 21



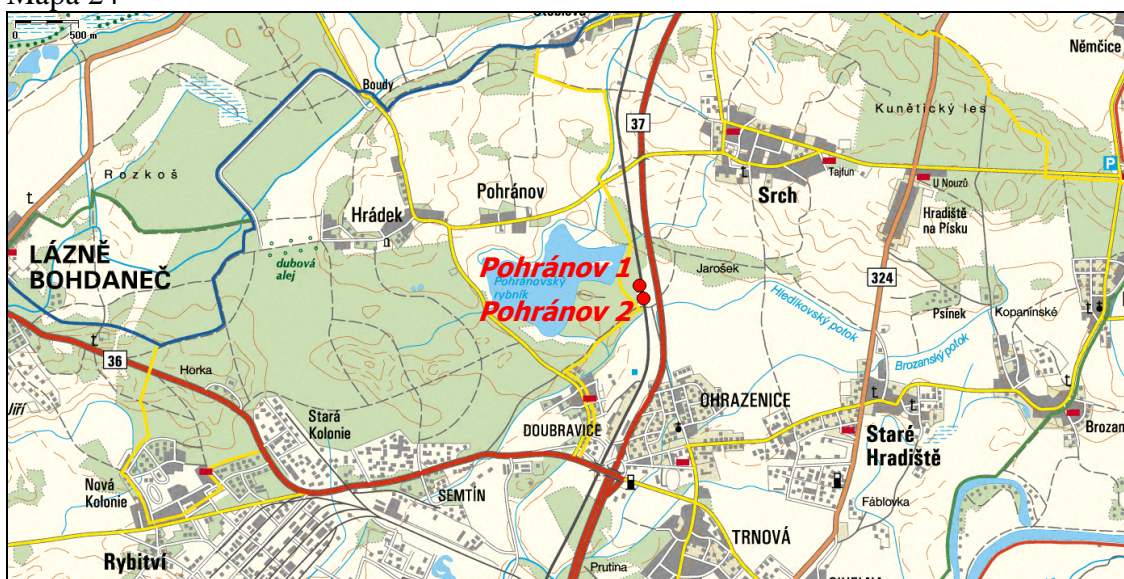
Mapa 22



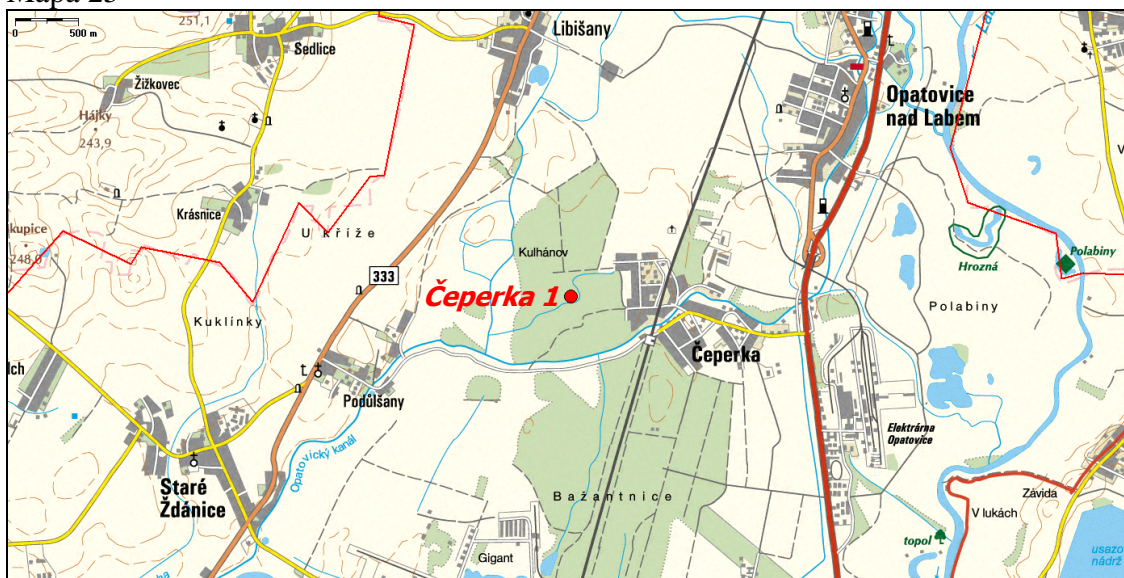
Mapa 23



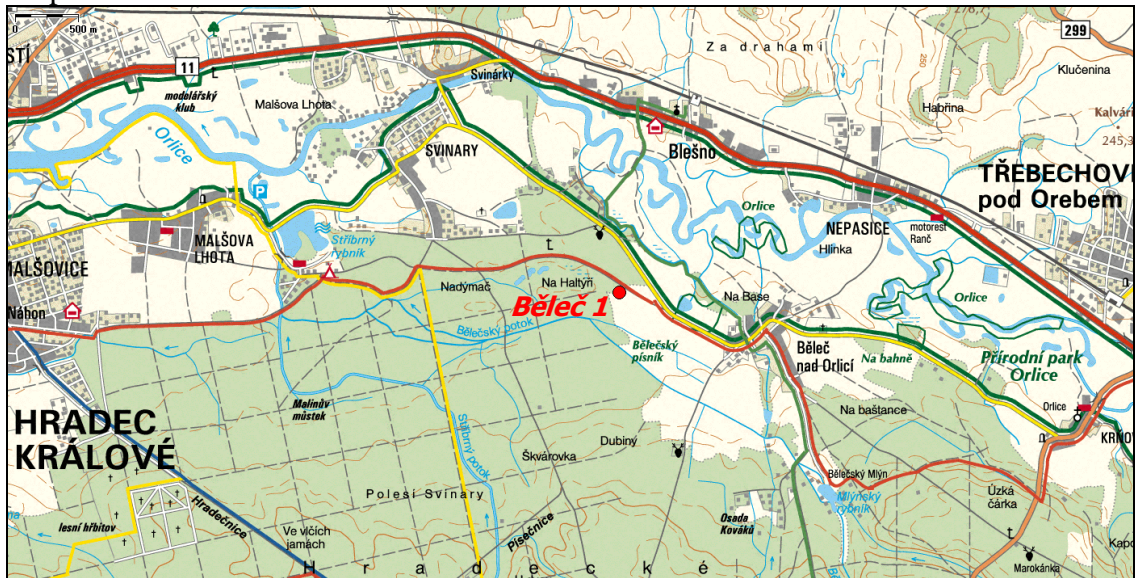
Mapa 24



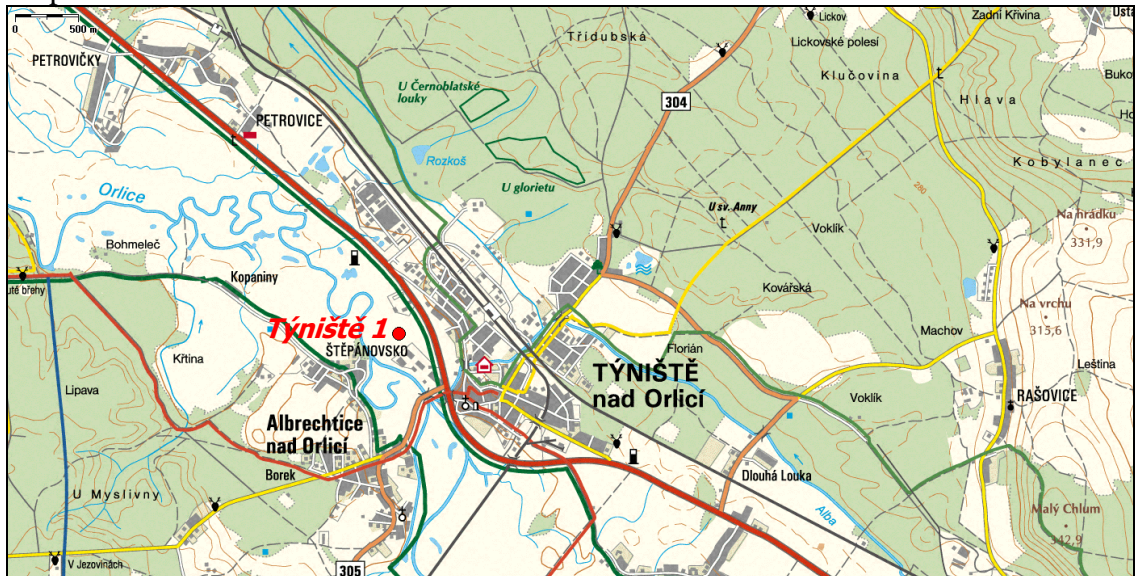
Mapa 25



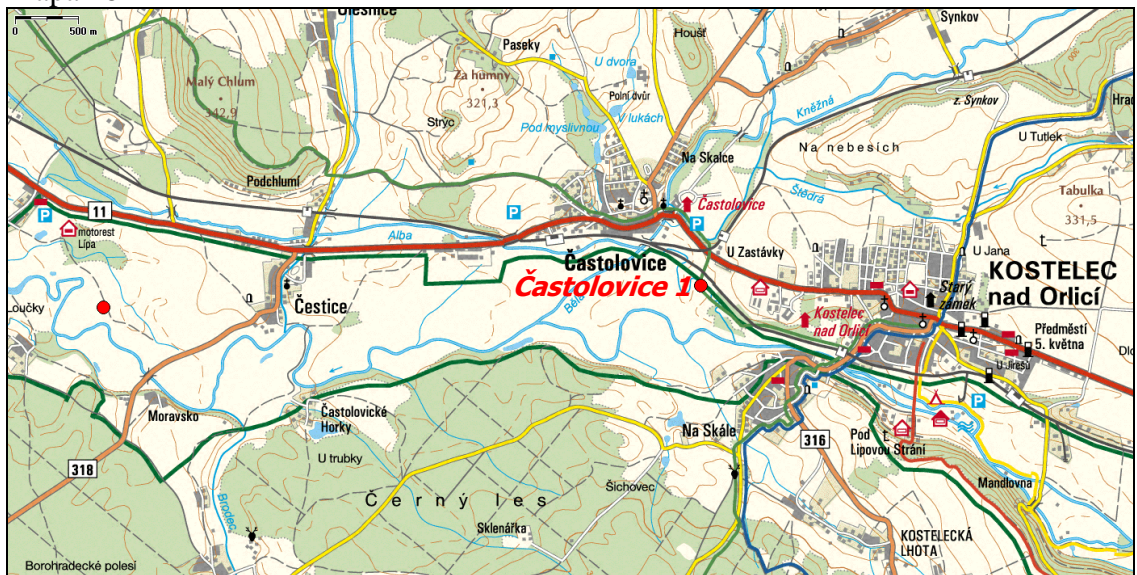
Mapa 26



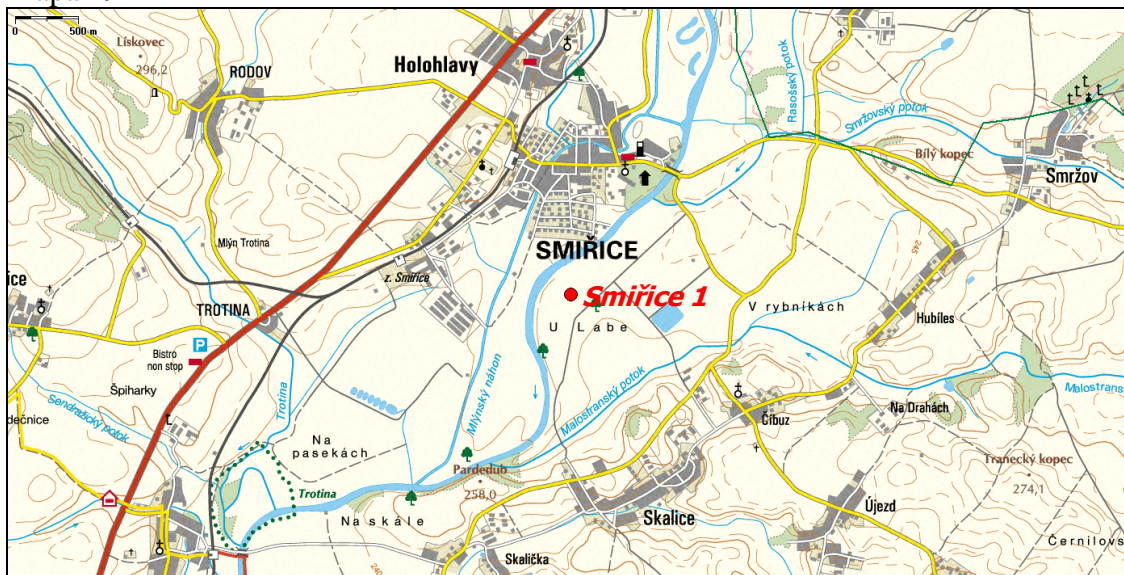
Mapa 27



Mapa 28



Mapa 29



Mapa 30



Mapa 31



Mapa 32

